

Aus dem Radiologie-Zentrum der Universität Marburg
Direktoren: Prof. Dr. Dr. E.H. Graul
Prof. Dr. F. Hess

MÖGLICHE URSACHEN DER VIRUSKARZINOGENESE

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der

Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von —

RENATE WACKER

aus Bad Wimpfen

1976

Marburg 1975

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus dem Radiologie-Zentrum der Universität Marburg
Direktoren: Prof. Dr. Dr. E.H. Graul
Prof. Dr. F. Hess

MÖGLICHE URSACHEN DER VIRUSKARZINOGENESE

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von

RENATE WACKER

aus Bad Wimpfen

Marburg 1975



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg am: 20.2.1976

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof.Dr.med.H.Oepen

Referent: Doz.Dr.rer.nat.F.Popp

Coreferent: Prof.Dr.E.Schaumlöffel

Gliederung

Seite

1.	Einleitung	1
1.1.	Was ist Krebs?	1
1.2.	Einzelne Krebstheorien	1
1.2.1.	Warburg's Krebstheorie	2
1.2.2.	Virchow's Reiztheorie	2
1.2.3.	Mutationstheorie	3
1.2.4.	Deletionstheorie	4
1.2.5.	Virustheorie	5
1.3.	Was sind Viren?	5
1.4.	Geschichtlicher Überblick über die Tumoviren	7
2.	Besonderheiten der Tumoviren - Unterschiede zwischen infektiösen Viren und Tumoviren	10
2.1.	Virus-Zell-Interaktionen	10
2.1.1.	Der Infektionszyklus	10
2.1.2.	Der abortive Zyklus	11
2.1.3.	Transformation	11
2.2.	Von der transformierten Zelle zum Tumor	14
3.	Zellveränderungen durch Tumoviren	18
3.1.	Veränderungen im Zellkern	18
3.1.1.	Wo bleibt das virale Genom?	18
3.1.2.	Strukturveränderungen in den Chromosomen	19
3.1.3.	Stimulierung der zellulären DNA-Synthese	20
3.1.4.	T-Antigen	21
3.1.5.	Die Transkription des viralen Genoms	23

	Seite
3.2. Veränderungen an der Zellmembran	25
3.2.1. Virale Antigene	25
3.2.2. Störungen des Informationsaus- tausches mit der Nachbarzelle	27
4. Unterschiede von DNA- und RNA- Tumroviren	32
4.1. DNA-Tumroviren	32
4.1.1. Übersicht	32
4.1.2. SV4o	33
4.1.3. Polyomavirus	34
4.1.4. Adenoviren	36
4.1.5. Defekte DNA-Tumroviren	37
4.1.6. Satellitenviren	39
4.2. RNA-Tumroviren	40
4.2.1. Übersicht	40
4.2.2. Allgemeine Eigenschaften	40
4.2.3. Transkription der RNA-Tumroviren	41
4.2.4. Beispiele von RNA-Tumroviren	42
4.2.5. Gemeinsamkeiten mit den DNA- Tumroviren	45
5. Onkogen- und Protovirus-hypothese	48
5.1. Onkogenhypothese	48
5.2. Protovirus-hypothese	49
6. Kokarzinogenese-Faktoren, die die virale Karzinogenese beeinflussen	52
6.1. Äußere Faktoren	52

6.1.1.	Verstärkung der viralen Onkogenität durch Strahlung und chemische Karzinogene und Mutagene	52
6.1.2.	Andere äußere Faktoren	54
6.2.	Wirtsfaktoren	54
6.2.1.	Genetische und humorale Faktoren	54
6.2.2.	Immunologische Faktoren	56
6.2.3.	Zellzyklus	58
7.	Die Rolle der Viren bei menschlichen Tumorerkrankungen	59
7.1.	Epstein-Barr-Virus (EBV)	59
7.1.1.	EBV und Burkitt-Lymphom	59
7.1.2.	EBV und Nasopharynxkarzinom	60
7.1.3.	EBV und weitere Tumoren	61
7.2.	Andere Herpesviren	62
7.3.	Transformation menschlicher Zellen durch DNA-Tumroviren in vitro	62
7.4.	Leukoseviren bei menschlichen Tumoren	63
8.	Ausblicke	66
9.	Literatur	80



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung

1.1. Was ist Krebs?

Krebs ist ein Zellverband, der den Informationsgehalt und den Informationsfluß für die natürliche Wachstumsregulation verloren hat. Dieser Informationsaustausch zwischen den Zellen wird durch Impulse vermittelt, von denen man noch nicht weiß, ob sie physikalischer (Photonen) oder chemischer Art (Chalone) sind.

1.2. Einzelne Krebstheorien

Eine echte Krebstheorie muß die vielen verschiedenen auslösenden und an der Krebsentstehung beteiligten Faktoren auf eine gemeinsame Ursache zurückführen können. Es muß also eine Theorie sein, die für alle Krebsarten zutrifft. Sie muß im mikrobiologischen Bereich an der Zelle oder sogar an der DNA ansetzen.

"Wie es viele entfernte Ursachen der Pest gibt - Hitze, Insekten, Ratten - aber nur eine gemeinsame Ursache, den Pestbazillus, so gibt es unzählig viele entfernte Krebsursachen - Teer, Strahlen, Arsen, Druck, Urethan, Sand - aber es gibt nur eine gemeinsame Krebsursache, in die alle anderen Krebsursachen einmünden." (Warburg 1955).

Deshalb gibt es keine "Chemische Theorie" und keine "Strahlentheorie", da diese nur bestimmte Aspekte und bestimmte Krebsarten berücksichtigen würden.

Ich möchte nun die wichtigsten Krebstheorien kurz umreißen.

1.2.1. Warburg's Krebstheorie

Schon 1923 hatte Warburg die Gärung von Tumoren entdeckt. 1955 entwickelte er aus seinen Beobachtungen und Hypothesen eine Krebstheorie.

Im Mittelpunkt stehen dabei die Mitochondrien, in denen die Atmungskette lokalisiert ist.

Die irreversible Schädigung der Atmung ist seiner Ansicht nach die Voraussetzung zur Entstehung einer Krebszelle. Diese geschädigten Zellen führen nun einen Überlebenskampf, "wobei ein Teil aus Energiemangel zugrunde geht, während es dem anderen Teil gelingt, die verloren gegangene Atmungsenergie durch Gärungsenergie zu ersetzen. Wegen der morphologischen Minderwertigkeit der Gärungsenergie werden hierdurch die hochdifferenzierten Körperzellen in undifferenzierte Zellen - in Krebszellen umgewandelt." (Warburg 1955).

1.2.2. Virchows Reiztheorie

Die eigentliche Krebsursache ist hierbei die chronische Reizung. Durch den Dauerreiz und die Schädigung des Gewebes kommt es zu einem verstärkten Repairmechanismus und verstärkten Zellteilungen. Das Risiko der überschießenden Reaktion ist somit erhöht. Aber was bewirkt nun den Übergang von der natürlich begrenzten Regeneration zur Krebszelle?

Da müssen nun verschiedene äußere karzinogene Reize eingreifen, eben gerade in dem Augenblick der chronischen Schädigung, es gibt da viele Beispiele: Leberzirrhose
- Leberkarzinom, Hautkrebs nach Verbrennungen oder bei Bauern und Seeleuten, Magenulkus - Magenkarzinom etc.

Aber es gibt so viele verschiedene chemische und physikalische Reize, die karzinogen sind. Man kennt sie aus Experimenten, aber weiß nicht, warum gerade die einen

karzinogen sind, andere sehr ähnliche Verbindungen aber nicht. Die Virchow'sche Reiztheorie mußte scheitern, weil es zu viele Ausnahmen gibt. Selbst wenn man die Viren auch als exogene Reize auffassen würde und sie damit in die Theorie einordnen könnte, gelingt dies nicht mit genetisch bedingten Tumoren, z. B. Teratomen (embryonale Mischgewebstumoren).

1.2.3. Mutationstheorie

Die genetische Information muß in einer Krebszelle verändert sein, da sie wieder Krebszellen produziert. Also muß die DNA verändert sein, es können Stücke fehlen, mehr vorhanden sein, oder es kann zu Anomalien kommen durch fehlerhaftes Crossing over u.s.w. Die Chromosomenzahl kann verändert sein oder die Morphologie der Chromosomen, z. B. das Philadelphia-Chromosom bei chronischer myeloischer Leukämie.

Bei menschlichen Tumoren scheinen normale Chromosomensätze die Regel zu sein.

Bei vielen Mäusestämmen konnte nachgewiesen werden, daß Krebs vererbbar ist. Die Krebsentstehung hängt aber von vielen Faktoren ab. Es gibt also eine genetische Disposition, die aber nicht unbedingt auch zum Krebs führen muß, z. B. Brustkrebs bei Mäusen und Xeroderma pigmentosum, wo auch nicht der Krebs, sondern die Lichtempfindlichkeit vererbt wird. Nicht alle Tiere reagieren gleich auf bestimmte chemische Karzinogene, das Erbgut könnte auch hier eine Rolle spielen.

Also stellt die genetische Disposition einen Faktor für das Krebsrisiko dar, außerdem können die Karzinogene vielleicht die Gene verändern.

Das ist der Kerngedanke der Mutationstheorie: "Karzinogene Reize (Strahlung oder chemische Karzinogene) lösen Mutationen aus." (K. H. Bauer 1928) Diese Mutationen sind dann verantwortlich für die Umwandlung in eine Krebszelle, indem sie wachstumsregulierende Funktionen

in Mitleidenschaft ziehen.

Danach müßten alle Mutagene auch Karzinogene sein. Für viele Faktoren trifft das auch zu, z. B. Röntgenstrahlen, UV-Strahlen, Nitrosamine, aber es gibt auch überzeugende Gegenbeispiele, z. B. Methylcholanthren, ein starkes Karzinogen, löst vermutlich kaum Mutationen aus. Außerdem handelt es sich um somatische Mutationen und nicht um echte Mutationen an Keimzellen.

Da die beiden klassischen Bedingungen einer Mutation, genetische Vererbung und Irreversibilität, auch für eine Krebszelle zutreffen, sind sich die Tumorgenetiker ihrer Theorie sicher, obwohl entscheidende experimentelle Beweise fehlen.

Auch die Virustumoren passen in die Hypothese, denn auch die Hinzufügung des Virusgenoms zum Zellgenom ist eine Art Mutation.

Die Mutation bewirkt allerdings nur die Initiierung einer Krebszelle, noch nicht die Entstehung eines Tumors; dabei spielen noch viele andere Faktoren, nicht zuletzt die körpereigene Immunabwehr, eine Rolle.

"Die Einsicht, daß eine Krebszelle eine mutierte Zelle ist, gehört zweifellos zu den grundlegenden Fortschritten auf dem Gebiet der Tumorforschung." (Euler) (aus K. H. Bauer's "Das Krebsproblem", 1963)

1.2.4. Deletionstheorie

Sie besagt, daß einer Tumorzelle Enzyme fehlen, die eine normale Zelle besitzt. Die Karzinogene reagieren mit bestimmten Proteinen und setzen diese dauernd außer Funktion, z. B. die Chalone = Wachstumshormone, die im Gewebe selbst produziert werden.

Krebs wäre demnach grundsätzlich reversibel, wenn wieder intakte Chalone zugeführt würden.

Der Unterschied zwischen einer Krebszelle und einer normalen Zelle liegt also im Repressionsmuster und

nicht im primären Genmaterial. Denn es ist bewiesen, daß jede Zelle das gesamte Genmaterial der befruchteten Eizelle besitzt.

Es findet also keine Mutation statt, sondern eine Umprogrammierung.

1.2.5. Virustheorie

Wird in Kapitel 5 ausführlich beschrieben.

1.3. Was sind Viren?

Nach dem Viruskonzept von Swoff (1962) gibt es fünf virusspezifische Hauptcharakteristika:

1. Die Viren besitzen nur einen Nukleinsäuretyp, DNA oder RNA.
2. Die Viren werden ausschließlich von ihrer Nukleinsäure reproduziert.
3. Die Ruhephase eines Virus, das Virion, wächst nicht und vermehrt sich auch nicht durch Zweiteilung.
4. Viren besitzen keine Enzyme, die die potentielle Energie von Nahrungsstoffen in hochenergetische Verbindungen, wie sie für biologische Synthesen notwendig sind, umwandeln können.
5. Viren bedienen sich bei ihrer Replikation der Ribosomen ihrer Wirtszellen.

Weitere Charakteristika sind:

Fehlen von Muraninsäure im Virion, Unempfindlichkeit gegen Antibiotika, Empfindlichkeit gegen Interferon.

Die Architektur der Viren

Sie bestehen aus einem Nukleinsäuremolekül (DNA oder RNA), das aus ungefähr 6000 Nukleotiden zusammenge-

setzt ist und einer Proteinhülle = Nukleokapsid, die entweder aus vielen identischen kleinen Molekülen oder aus mehreren Proteinspezies aufgebaut ist. Diese Kapsomere können helikal oder kubisch in Form von Ikosaedern angeordnet sein. Die Zahl der Kapsomere schwankt zwischen 32 bei Picornaviren und 250 bei Adenoviren.

Manche Viren haben noch eine äußere Hülle = Envelope, bestehend aus Proteinen und Phospholipiden. "Es ist kein Einfluß von außen erforderlich, um die zeitliche und räumliche Ordnung der Gestaltung zu bewirken."
(Sauer 1972)

Die Einteilung der Viren

1. RNA-haltige Viren

- a) Picornaviren, 15-30 nm, ohne Hülle, z. B. Polioviren, Echoviren, Rhinoviren
- b) Reoviren, 70-75 nm, ohne Hülle, z. B. Echo-Virus Typ 10
- c) Arboviren, 20-60 nm 200 Arten, z. B. Gelbfieber-Virus, Anopheles-Virus
- d) Myxoviren, 80-100 nm, mit Hülle, z. B. Influenzaviren
- e) Paramyxoviren, 150-250 nm, mit Hülle, z. B. Sendaivirus, Mumpsvirus, Masernvirus
- f) Rhabdoviren, 140-240 nm, mit Hülle, z. B. Tollwutvirus, Marburgvirus
- g) Leukoviren, 90-110 nm, mit Hülle, onkogen, z. B. Rous-Sarkom-Virus, Leukosevirus
- h) Rubellaviren, 50 nm, mit Hülle, z. B. Rötelnvirus
- i) Coronaviren, 80-160 nm, z. B. Mäusehepatitisvirus

2. DNA-haltige Viren

- a) Ricodnaviren, 18-24 nm, keine Hülle, z. B. Adenosatellitenviren

- b) Papovaviren, 41-55 nm, keine Hülle, onkogen, z. B. Shope-Papillom-Virus, Polyoma-Virus
- c) Adenoviren, 60-90 nm
Serotypen 1-31
- d) Herpesviren, 180-250 nm, Doppelhülle, z. B. Herpes-Simplex-Virus Typ I und II, Epstein-Barr-Virus, onkogen
- e) Pockenviren, 200-250 nm, mit Hülle, z. B. Variola major, Variola minor.

1.4. Geschichtlicher Überblick über die Tumorstoffe

1. Periode: 1910 - 1930

1908 entdeckten die Dänen Ellermann und Bang Leukämie- und Erythroblastoseviren bei Hühnern.

1910 war es Peyton Rous, einem Amerikaner, gelungen, ein spontanes Hühnersarkom zellfrei zu übertragen. Das Virus wurde nach ihm benannt. Aber diese "Virus-Krebse" wurden allgemein nicht anerkannt, da sie keine oder nur wenige Viren enthielten und damit die Koch'schen Postulate nicht erfüllten.

2. Periode: 1935 - 1960

In dieser Zeit wurden die ersten Säugetiertumorstoffe entdeckt, z. B. das Shope-Papillomvirus bei Kaninchen, wobei die Tumoren bei zahmen Kaninchen schneller wuchsen als bei wilden und keine freien Viren enthielten.

Bittner entdeckte 1936 einen Faktor in der Muttermilch von Mäusen, der Brustkrebs fördert. Dieses Bittner-Virus kann bei einer bestimmten genetischen Disposition Mammakarzinome induzieren, wenn genügend weibliche Hormone vorhanden sind.

Mäuseleukämieviren wurden entdeckt, die nach ihren Entdeckern benannt sind, z. B. Gross 1951, Friend 1957, Rauscher 1962.

Man beschäftigte sich in dieser Zeit auch stark mit der Karzinogenese und fand heraus, daß die Viren in Tumoren "maskiert" sind und sich meist nicht direkt nachweisen lassen. 1953 entdeckten Stewart u. Eddy das Polyoma-Virus, das viele verschiedenartige Tumoren in Hamstern, Ratten, Mäusen und Kaninchen erzeugen kann.

3. Periode: 1960 - 1968

Forcierte Beschäftigung mit den DNA-Tumorstoffen. Man bemerkte das Fehlen jeder Ansteckung beim Krebs.

1960 fanden Sweet und Hilleman in normalen Affennierenzellen das onkogene SV40 (Simion Virus 40). Es kann Hamsterzellen transformieren. Trentin entdeckte die onkogenen Adenoviren, z. B. Typ 12.

Die Herpesviren gerieten immer mehr in den Verdacht, bei menschlichen Tumoren beteiligt zu sein.

Als erster menschlicher Virus-Tumor wird das Burkitt-Lymphom anerkannt, das höchstwahrscheinlich vom Epstein-Barr-Virus, einem Virus der Herpesgruppe, verursacht wird. In diese Zeit fällt auch Huebner's Entdeckung der T-Antigene, die die wichtigste Veränderung im Zellkern der durch Viren transformierten Zellen darstellen.

4. Periode: 1968 - heute

Als wichtigste Entdeckung in letzter Zeit gilt für die Tumorstoffen die Entdeckung der "reversen Transkriptase" in RNA-Tumor-Viren durch Temin und Baltimore 1970. Da hierbei DNA an der viralen RNA-Schablone transkribiert wird, verläuft danach die weitere Entwicklung wie bei den DNA-Tumorstoffen. Man kann auf einen gemeinsamen Mechanismus schließen.

1969 stellten Huebner und Todaro ihre Onkogenhypothese auf.

1972 formuliert Temin seine Protovirushypothese.

In vielen Säugetieren, z. B. bei Katzen, Hamstern und

Hunden und auch beim Menschen werden Typ C-Viren nachgewiesen. Zur Bezeichnung Typ C-Viren kam es, weil ihre Form im Elektronenmikroskop einem C ähnelt. Sie sind die eigentlichen endogenen Viren.

2. Besonderheiten der Tumorstellen - Unterschiede zwischen infektiösen Viren und Tumorstellen

2.1. Virus-Zell-Interaktionen

2.1.1. Der Infektionszyklus

Normalerweise kommt es, wenn Viren eine Zelle infizieren, zur Produktion neuer Viren, d. h. die Virus-DNA veranlaßt die Zelle zur Produktion und zum Untergang der Zelle.

Nach der Adsorption, die entweder durch elektrostatische Anziehung oder spezifische Rezeptoren in der Zellmembran ermöglicht wird, kommt es zur Penetration der Viren in die Zelle, meist durch Phagozytose. Manche Viren lassen ihre Hüllen an der Zellmembran zurück und injizieren nur ihre Nukleinsäure, z. B. Bakteriophagen.

Danach erfolgt im Zytoplasma das "Uncoating", die Freisetzung der genetischen Information. Die virale DNA wird sehr bald nach der Infektion im Zellkern gefunden, zumindest ein Teil wird in die Zell-DNA integriert. Ein kleiner Teil virus-spezifischer RNA wird transkribiert, die "frühe" m-RNA, bevor sich die DNA repliziert hat. Die Viren aktivieren einige zelluläre Gene zur Herstellung bestimmter Enzyme, z. B. Thymidin-Kinase und DNA-Polymerase, die zum Aufbau viraler Proteine benötigt werden.

Dann erfolgt die virale DNA-Synthese und die Synthese der "späten" m-RNA, die aus großen Molekülen besteht und den größten Anteil der viralen genetischen Infor-

mation trägt.

Im Zytoplasma ereignet sich die Synthese der viralen Hüllenproteine, die dann zum Zellkern wandern, wo die Viruspartikel aus den Bausteinen zusammengesetzt werden und reifen. Sie verlassen dann die Zelle, die dabei zerstört wird.

2.1.2. Der abortive Zyklus

Er nimmt eine Zwischenstellung ein zwischen dem Infektionszyklus und der Transformation.

Nach der Virusinfektion, z. B. mit SV40 oder Polyomaviren, kommt es zur Stimulation der DNA-Synthese und zur Produktion von Antigenen (T-Antigen und Membran-Antigene), zu einigen Zellteilungen, zu Clones und dann wieder zu normalem Zellwachstum. Also eine kurzzeitige Veränderung in Richtung Transformation, die aber reversibel ist. Man kann sagen, "die Infektion ist nicht angekommen". Warum das so ist, ob das Virus oder die Zelle dafür verantwortlich ist, daß die Transformation erhalten bleibt, ist noch nicht genau bekannt. Ich werde in Kapitel II B darauf zurückkommen.

2.1.3. Die Transformation

a) Was ist eine transformierte Zelle?

Das wichtigste Kriterium besteht in der Veränderung ihres Verhaltens zu den Nachbarzellen, im Verlust der Wachstumsregulation im Zellverband. Meist kommt es in transformierten Zellen zu erhöhten Wachstums- und Teilungsraten.

Sie besitzen virus-spezifische Antigene. Sie müssen die Fähigkeit haben, zu Tumoren zu wachsen.

Die meiner Ansicht nach beste Definition gab Black 1968: "Transformation wird definiert als eine vererbliche Änderung der Eigenschaften einer Zelle nach einer Virusinfektion, die sich als Verlust der Regulationsmechanismen ihres Wachstumspotentials manifestiert. Die Transformation wird sehr häufig begleitet von einem Verlust der Kontakthemmung der Mitose; Veränderungen der Morphologie, der glykolytischen Rate, des Karyotyps und der Erwerb des malignen Potentials können die Transformation begleiten."

b) "Virus-freie" Virus-Tumoren?

Eine der bemerkenswertesten Tatsachen bei der Virus-transformation ist die, daß sich in durch Viren transformierten Zellen meist keine infektiösen Viren nachweisen lassen. Daher glaubte man jahrelang nicht an die Auslösbarkeit von Krebs durch Viren. Denn die Koch'schen Postulate forderten "die Isolierung des Erregers aus erkranktem Gewebe oder aus Absonderungen des Erkrankten, seine Kultivierung außerhalb des Organismus und der Nachweis seiner Pathogenität im geeigneten Versuchstier." (H. zur Hausen, Virus und Krebs, 1973)

1958 entdeckten Stewart und Eddy, daß ein bestimmtes Virus nach Verimpfung in neugeborene Hamster und andere Nagetiere viele verschiedenartige maligne Tumoren hervorrief. Sie nannten es deshalb Polyoma-Virus. In den Tumorzellen aber fanden sich keine Viruspartikel und auch keine viralen Strukturanligene. Das Virus war nach Auslösung der Transformation verschwunden. Wo aber war es geblieben?

c) Beweise der Virustransformation

Man suchte nun nach Anhaltspunkten dafür, daß die Viren oder zumindest ihre DNA doch noch in den transformierten Zellen vorhanden waren. Man nannte sie "maskierte Viren". Durch Nukleinsäurehybridisierungen konnte man

zeigen, daß die DNA der Viren in den Zellen vorhanden war (H. zur Hausen, 1970).

Man entdeckte, daß sie ganz oder zum Teil in die Zell-DNA integriert wird, den gleichen Regulationsmechanismen wie die Wirts-DNA folgt; also auch an die Tochterzellen bei Teilung weitergegeben wird. Damit wird sie vererblich.

Während in Zellen, die das Virus vermehren, das gesamte virale Genom transkribiert wird, sind in Tumorzellen nur wenige Gene des Virusgenoms aktiv. Diese produzieren die virusspezifischen Antigene, das T-Antigen im Zellkern, das TSTA = Tumor-spezifisches Transplantations-Antigen in der Zellmembran und andere Oberflächen-Antigene, die zu Veränderungen der Zellmembran führen und vom immunkompetenten Wirt als fremde Antigene erkannt werden.

Durch DNA-RNA-Hybridisierung wurde von Gillespie und Spiegelmann 1965 erstmals ein Nachweis der virus-spezifischen RNA erbracht, bei SV40. Benjamin gelang dies 1966 bei Polyoma-Viren, Fujinaga 1968 bei Adenovirus 12. DNA-haltige Tumoviren transformieren fast nur Zellen, die für die Virusvermehrung nicht-permissiv sind, denn sonst würden die Zellen zerstört werden. Die Transformation permissiver Zellen, die die Vermehrung der Viren gestatten, kann nur zustande kommen, wenn das infizierende Virusgenom selbst inkomplett, also defekt, ist. Mit bestimmten Techniken kann man auch transformierte Zellen, die spontan keine Viruspartikel entlassen, dazu bringen, infektiöse Viren zu produzieren. Zum ersten Mal war dies Sabin und Koch 1963 gelungen, Gerber (1966) erreichte es durch die Fusion von nicht-permissiven SV40-transformierten Zellen mit permissiven Zellen.

Andere Möglichkeiten sind Behandlungen mit Mutagenen, z. B. Röntgenstrahlen, UV-Strahlen und Mitomycin C, das die größte Menge an Viren induziert, oder Fusion von transformierten Zellen und normalen Zellen mit durch

UV-inaktivierten Sandai-Viren (G. Meyer, 1971).

Lange Zeit gelang es nie, in Polyoma- und Adenovirus 12 transformierten Zellen Viren zu induzieren. Man erklärte es damit, daß das ins Zell-Genom integrierte Polyoma- oder Adenovirus 12-Genom defekt ist und daher unfähig zur Synthese kompletter infektiöser Virionen.

Aber Fogel und Sachs gelang doch 1969 die Isolierung von infektiösen Viren aus Polyoma-induzierten Tumorzellen. Die Produktion konnten sie um ein Vielfaches erhöhen durch Röntgenstrahlen oder UV-Strahlen, verbunden mit Mitomycin C.

2.2. Von der transformierten Zelle zum Tumor

Nur wenige transformierte Zellen entwickeln sich auch wirklich zu einem Tumor. Sehr komplexe Mechanismen humoraler und immunologischer u. a. Art sind dafür verantwortlich. Mehrere Zellgenerationen sind dafür nötig.

Die virus-induzierte DNA-Synthese und Zellteilung bestimmen nicht den dauernden transformierten Zustand. Nur ein Teil der Zellen bleibt transformiert. Entweder führt die virus-induzierte Zell-DNA-Synthese nicht zur Integration des Virusgenoms oder dieses kommt nicht wirksam zum Ausdruck, es wird unterdrückt (Ch. Scher, 1971). Daraus ergibt sich, daß die Anwesenheit und genetische Aktivität zumindest eines Teils des viralen Genoms notwendig ist zur Aufrechterhaltung des transformierten Zustandes.

Das SV40 oder das Polyoma-Virus-Genom enthält nur 3 - 8 Gene. Wenn nun m RNA nur von 30 % des viralen Genoms transkribiert wird, scheinen nur 1 - 2 virale Gene für die Erhaltung der Transformation nötig zu sein.

Durch Untersuchungen an temperaturempfindlichen Mutanten des Polyoma-Virus (Fried, 1965) und des Rous Sarkom Virus (Martin, 1970) gelangte man zur Erkenntnis, daß der Teil des viralen Genoms, der für die Transformation

verantwortlich ist, nicht auch der Erhaltung der Transformation dient.

Vielleicht enthält der Teil des Genoms, der die onkogenen Funktionen kodiert, auch die Information für die Synthese eines Blockers der viralen Vervielfältigung. Wahrscheinlich spielt dabei ein Repressor-Mechanismus eine Rolle. Werden die viralen Gene transkribiert, kann die Transformation erhalten bleiben, werden sie unterdrückt, z. B. durch Erhöhung der Temperatur bei temperatur-empfindlichen Mutanten, kann die Transformation nicht erhalten werden.

1968 wurde in SV40-transformierten Zellen ein Repressor entdeckt, ein Proteinmolekül, das die SV40 Multiplikation in Affenzellen reduziert (Cassingena und Tournier).

1970 entdeckte Zomfirerco einen spezifischen Repressor in polyoma-transformierten Hamsterzellen, ebenfalls ein Protein, resistent gegen DNase und RNase, vom Virus kodiert.

Übersicht

A.	Virus-Zell-Interaktionen
Infektionszyklus	Virusinfektion: Adsorption, Penetration, Uncoating Integration der viralen DNA ins Zellgenom Transkription virus-spezifischer RNA, virale DNA-Synthese, Syn- these der viralen Hüllenproteine, Zusammensetzung und Reifung neuer Viruspartikel Zelltod
Abortiver Zyklus	Beginn wie Infektionszyklus, aber keine Produktion neuer Viren, Produktion von T-Antigen und Membran- Antigenen, Stimulation der Zell- DNA-Synthese, einige Mitosen, danach wieder normales Zellwachs- tum
Transformation	Virusinfektion Integration der viralen DNA ins Zellgenom Produktion virus-spezifischer RNA und virus-spezifischer Antigene (T-Antigen, TSTA, S-Antigen). Meist keine Virus-Produktion Erhaltung der Zelle, aber Verlust der normalen Kontakthemmung

B.

Erhaltung der Transformation

Die Anwesenheit und genetische Aktivität eines Teils des viralen Genoms ist erforderlich, meist nur 30 %.

Ein Repressor-Mechanismus spielt eine Rolle.

Mitverantwortlich sind humorale und immunologische Faktoren.

3. Zellveränderungen durch Tumorstellen

3.1. Veränderungen im Zellkern

3.1.1. Wo bleibt das virale Genom?

Was ich in Kapitel 2 A schon angedeutet habe, will ich nun genauer ausführen. Durch Hybridisierungsversuche zwischen viraler DNA und transformierter Zell-DNA (Axelrod, 1964, Aloni, 1967, zur Hausen, 1970) und zwischen viraler RNA und transformierter Zell-DNA (Wino-cour, 1965, Westphal u. Dulbecco, 1968, Green, 1971) entdeckte man, daß die virale DNA in die Zell-DNA integriert wird und zwar meist während der S Phase des Zellwachstums, der Phase der zellularen DNA-Synthese, weil es dann mehr geeignete Orte für die Integration gibt. Die Integration der SV40 benötigt keine DNA-Synthese, aber diese beschleunigt ihre Integration.

Veränderungen in der Zell-DNA begünstigen die Integration. Wenn das Virus gleich nach der Behandlung der Zellen mit Röntgen- oder UV-Strahlen hinzugefügt wird, kommt es zu einer Zunahme der Transformation, die auf Chromosomenbrüche und die dadurch ermöglichte bessere Integration des viralen Genoms zurückzuführen ist. "Die Virus-DNA schlüpft in die Brüche." (B. C. Casto, 1973)

Es gibt genaue Untersuchungen über den zeitlichen Ablauf der Integration des viralen Genoms und über Zahl, Art und Sitz für verschiedene Viren.

Die SV40-DNA wird in kleinere Sedimente zerlegt und 24 - 48 Stunden nach der Infektion kovalent an die zelluläre DNA gebunden. Nach 48 Stunden sind 1,1 - 1,2 SV40-DNA Äquivalente/Zelle integriert. (Collins und Sauer, 1972)

Im Ganzen wird die Zahl der SV40-DNA-Equivalente sehr unterschiedlich eingeschätzt, von 2/Zelle (Levine, 1970) bis 100/Zelle (Aloni, 1967).

Der Zustand der SV40-DNA in der transformierten Zelle wurde schon 1968 genauestens von Sombrook studiert.

Die SV40-DNA wird in linearer Form kovalent an die chromosomale DNA gebunden, sie ist alkali-beständig. Die Lokalisation der SV40-DNA ist unterschiedlich in jeder Zelllinie; sie befindet sich aber nie an einem Ort in den Chromosomen, sondern ist verteilt in verschiedene Chromosomen. (Gelb und Martin, 1973)

Das Adenovirus 12-Genom befindet sich schon nach 8 Stunden zu 80% in den Chromosomen, im peripheren Chromatin, nahe der Kernmembran. Nach 24 Stunden findet eine Hybridisierung von 50 % der viralen DNA mit der Zell-DNA statt. Im Gegensatz zu SV40 wird das virale Adenovirus 12 Genom degradiert, und es sind hauptsächlich Fragmente der Adenovirus 12-DNA, die an die Zell-DNA kovalent gebunden werden. (H. zur Hausen, 1973)

Eine schwindende Fraktion des viralen Genoms bleibt in den Zellen wenigstens 48 Stunden ohne Bindung an die Zell-DNA.

Die Zahl der Adenovirus 12-DNA Equivalente, die pro Zelle integriert werden, beträgt 5 - 55. (Doerfler, 1970) Hemmstoffe der DNA-Synthese verhindern nicht die Integration der Virus-DNA. Hemmstoffe der Zell-Protein- und Zell-RNA-Synthese reduzieren die Integrationsrate nur wenig.

3.1.2. Strukturveränderungen in den Chromosomen

Bei Adenovirus Typ 12-induzierten Chromosomenabberationen kommt es zuerst zu diploiden oder pseudodiploiden Chromosomen, zur Chromosomeninstabilität, zu polyploiden Metaphasen, zu aneuploiden Karyotypen und dann zu Chromosomenbrüchen. (H. zur Hausen, 1973)

Eine Endonuklease wurde in Verbindung mit Adenovirus-Hüllen-Antigenen entdeckt, die vielleicht die Zellchromosomen angreift.

Eine Reduktion der Zell-DNA-Ligase Aktivität kann auch zu Chromosomenabberationen führen.

Chromosomenabberationen führen gewöhnlich zum Zelltod, also gibt es keine Transformation. Daher bleiben Zellen, die die Adenovirus-Infektion überleben, ohne sichtbare Strukturveränderungen der Chromosomen.

Es gibt keine Beziehung zwischen dem onkogenen Potential dieses Virus und seiner Fähigkeit, Chromosomenläsionen zu induzieren.

Bei SV40-Infektion kommt es zu Chromosomenanomalien - Chromosomenbrüchen, Polyploidie, dizentrische Chromosomen - nur nach endgültiger Transformation. (G. Meyer, 1971)

Durch RNA-Viren verursachte Chromosomenveränderungen sind spezifischer und sehr bezogen auf die virale Transformation. Es kommt dabei zu einer Häufung der Chromosomenbrüche in spezifischen chromosomalen Regionen. Die Erklärungen hierfür sind recht unterschiedlich.

3.1.3. Stimulierung der zellulären DNA-Synthese

Der Einfluß der Tumor-Viren auf die Kontrollmechanismen der Zell-DNA Replikation führt zu Veränderungen in der Wachstumskontrolle.

Nach der Infektion von SV40 kommt es zur Zunahme der Histon- und der DNA-Synthese- und Mitoserate.

(Dulbecco, Rozenblatt, Winocour, 1971)

Untersucht wurde der Effekt von Aminonukleosiden auf die Serum-Stimulation der DNA-Synthese bei normalen und bei SV40-transformierten menschlichen Fibroblasten.

(Cholan, Studzinski, 1974) Es kommt bei beiden nach Zugabe von frischem Serum zur DNA-Synthese. Aber die SV40-transformierten Zellen sind resistent gegen den

hemmenden Effekt der Aminonukleoside.

Die Adenovirus 12-Infektion in der G 1 Phase führt zu einem Zyklus von schnellen Synthesen größerer Enzymmengen, die zur zellulären DNA-Synthese benötigt werden. (W. Strohl, 1973) Die Fähigkeit zur Induktion der Zell-DNA-Synthese ist abhängig von der Transkription wenigstens eines viralen Gens, das bis jetzt noch unbekannt ist. Es muß sich aber um ein frühes virales Gen handeln. Der erfolgreiche Beginn der Synthese trotz Fehlens von Serum läßt vermuten, daß dieses Virusgen das Zeichen zum Beginn selbst gibt. Alle Resultate unterstützen die Hypothese, daß die Chromosomenreplikation die Folge der Adenovirus 12-induzierten Initiation ist.

Der Zelltod ist eine virus-induzierte Komponente, die in Adenovirus 12-transformierten Zellen fehlt oder unterdrückt wird.

Die Mitose folgt der DNA-Synthese, die Kontakt-Hemmung wird aufgehoben.

Die Adenovirus 12 Infektion ist also ein Stimulans für die Zellen in der G 1 Phase, in die S Phase einzutreten.

3.1.4. T-Antigen

"Die wichtigste Veränderung im Zellkern war das Erscheinen eines neuen Antigens." (G. Meyer, 1971) Huebner entdeckte es zuerst 1963 bei SV40, Habel 1965 bei Polyoma-Virus mit Komplementbindungsreaktionen.

Später benutzte man die Immunofluoreszenzmethode. (Pope und Rowe, 1964) Die Antikörper befanden sich in Tumor-tragenden Hamstern.

Im Elektronenmikroskop sieht man ein wolkiges Netzwerk über den ganzen Zellkern verstreut, das den Nukleolus freiläßt.

Kinetische Studien von Rapp (1965) bei SV40 und von Takemoto (1966) bei Polyoma-Viren zeigten, daß das T-Antigen 12 - 24 Stunden nach der Infektion erscheint, also ein frühes Ereignis der viralen Transkription ist. Die Synthese des T-Antigen wird von DNA-Synthese-Hemmstoffen nicht berührt, aber gehemmt durch Actinomycin C.

Das T-Antigen ist spezifisch für das infizierende Virus, es muß daher vom viralen Genom kodiert werden. Auch isolierte SV40-DNA kann die T-Antigen-Synthese induzieren. (Black und Rowe, 1965)

Nach der Infektion mit Polyoma-Viren zeigen alle Zellen T-Antigen, aber nur 5% werden transformiert. (Stoker, 1964) (Vergleiche Kapitel 2: Der abortive Zyklus). Alle Zellen sind in die Wirtszell- und viralen Genominteraktionen verwickelt, aber die meisten Zellen revertieren in den normalen Zustand.

Die Hälfte des viralen Genoms, das für die Replikation notwendig ist, wird für die Kodierung des T-Antigen benötigt.

Die T-Antigene sind beständig zwischen pH 5,7 - 8,8. Sie sind hitzeempfindlich, bei 56°C wird die Hälfte zerstört. Sie sind resistent gegenüber DNase und RNase, aber empfindlich gegen Trypsin (Gilden, 1965).

Das Molekulargewicht beträgt nach Schätzungen zwischen 80 000 daltons (Del Villano, Defendi, 1970) und 200 000 daltons (Gilden, 1965).

Das Absorptionsspektrum von T-Antigen hat ein Maximum bei 278 nm und ein Minimum bei 250 nm; das ist charakteristisch für Proteine (Gilead, 1968). Das T-Antigen enthält 20% Lipide. Seine physikalischen Eigenschaften zeigen, daß das T-Antigen mit keinem Enzym, das in die DNA-Synthese verwickelt ist, identisch ist. (Kit, 1967)

Seine biologische Funktion ist noch unbekannt.

"Neuere Untersuchungen haben ergeben, daß es virusinduzierte Tumorzellen gibt, die kein T-Antigen enthalten.

Danach dürfte dieses Antigen für die Transformation entbehrlich sein." (Süss, Kinzel, Scribner: Krebs, S. 145) Wahrscheinlich wird das T-Antigen ins Zytoplasma synthetisiert, wo es sich in einer nicht-antigenen Form befindet, und wandert dann zum Zellkern.

1970 gelang die Isolation von T-Antigen aus dem Zytoplasma (Duff und Rapp). Die Transformation erfolgte durch PARA. Das sind Tumolviren, die in Adenovirus Typ 7-Hüllen defektes SV40-Genom enthalten. Das T-Antigen war während der Replikation im Zytoplasma vorhanden. Wahrscheinlich sind die T-Antigene im Zellkern und im Zytoplasma identisch.

Vor einigen Jahren wurde über ein neues SV40 spezifisches Antigen, das U-Antigen, berichtet. (Lewis, 1969) Es sitzt in der Gegend um den Zellkern. Antikörper gegen das U-Antigen wurden auch in Seren von SV40-Tumor-tragenden Hamstern entdeckt. Im Gegensatz zu T-Antigen ist U-Antigen hitzebeständig. Seine Funktion ist unbekannt.

3.1.5. Die Transkription des viralen Genoms

Ein Drittel des viralen Genoms von SV40, Polyoma- und Adenoviren wird für die Kodierung der viralen Hüllproteine benötigt. Die Zahl der viralen Gene, die für die Transformation übrig bleiben, ist also schon dadurch begrenzt. Die Menge von Polyoma- oder SV40-spezifischer RNA, die in transformierten Zellen gefunden wurden, ist gering (Aloni, 1968). Etwas größere Mengen virus-spezifischer RNA wurden in Adenovirus-transformierten Zellen gefunden, 1 - 5 % (Fujinaga und Green, 1966) Virus-spezifische RNA wurde sowohl im Zellkern als auch im Zytoplasma entdeckt. (Lindberg und Darnell, 1970) Das ist das Kriterium einer funktionellen mRNA. Die virus-spezifische RNA wird in zwei Schritten produziert. Gleich nach der Infektion erscheint noch vor der viralen

DNA Replikation eine kleine Menge "früher" RNA. Man kann größere Mengen "früher" RNA erhalten, wenn man die virale DNA-Synthese durch Hemmstoffe unterdrückt (Corp,1969).

Nach dem Beginn der zellularen und viralen DNA-Synthese wird die "späte" RNA produziert, deren Menge das 30-fache der frühen RNA beträgt. Trotzdem ist die Isolation "später" RNA frei von "früher" RNA schwierig, da diese lange Zeit erhalten bleibt.

Es gibt zwei Typen von SV40 m RNA im Zytoplasma, 16 S- und 19 S-RNA. (Weinberg und Winocour,1970)

Wenn die virale DNA-Replikation gehemmt wird, häuft sich die 19 S-RNA an. Das bedeutet, daß die 16 S-RNA eine "späte" RNA ist. So ist es möglich, sie zu unterscheiden.

"Frühe" virale m RNA von infektiösen und transformierten Zellen sind nicht ganz identisch. Einige frühe m RNA-Sequenzen gibt es nicht in transformierten Zellen, und einige gibt es, die nicht in produktiven Zellen zu finden sind. (Oda und Dulbecco,1968) Das gilt für SV40. In Adenovirus 2-transformierten Zellen sind alle RNA-Sequenzen vorhanden wie in produktiven Zellen (Fujinaga und Green,1970). In den meisten transformierten Zellen wird nur ein Teil des viralen Genoms in RNA transkribiert. Das unterscheidet sich von Zelle zu Zelle, von 30 - 100%. (Aloni 1968, Martin und Axelrod,1969, Fujinaga und Green,1970) Die Größe der viralen m RNA-Moleküle in SV40-transformierten Zellen beträgt 6 - 30 S für die polynibosomale RNA und 30 - 45 S für die nukleare RNA (Lindberg und Darnell,1970). Die größten nuklearen RNA-Moleküle sind größer als 45 S und damit länger als das ganze SV40 Genom. Die großen Moleküle sind wahrscheinlich Vorläufer für die zytoplasmatische m RNA. Sie können transkribiert werden an viraler DNA, die in die Zell-DNA integriert ist oder an mehreren viralen SV40 Genen in tandem.

3.2. Veränderungen an der Zellmembran

3.2.1. Virale Antigene

a) Tumor-spezifisches-Transplantations-Antigen (TSTA)

Von allen Veränderungen, die die Zelle während der Transformation durch ein Virus erfährt, ist das Auftreten spezifischer Antigene an der Zelloberfläche eine der wichtigsten.

Zuerst wurde das TSTA 1961 bei Hamstern entdeckt, die mit Polyoma-Viren geimpft worden waren (Habel). TSTA ist kein Hüllen-Antigen, da antivirale Antikörper keinen Effekt auf das Wachstum von Tumor-Zellen haben.

TSTA ist in allen mit SV40 in vitro transformierten Zellen zu finden, und es ist identisch mit dem Antigen auf virus-induzierten Tumorzellen.

Die Synthese von TSTA kann mit Hemmstoffen der Protein-Synthese und durch Actinomycin D blockiert werden, aber nicht durch DNA-Synthese-Hemmstoffe.

TSTA ist spezifisch für das transformierende Virus.

Die Lokalisation von TSTA auf der Zellmembran ist sehr wahrscheinlich, denn nur so ist eine unmittelbare Reaktion zwischen transplantierten Zellen und abwehrenden Lymphozyten möglich. Außerdem induzieren Zellmembranen, die von SV40-Tumorzellen isoliert wurden, eine immunologische Toleranz gegen SV40 TSTA in neugeborenen Hamstern (Tevethia und Rapp, 1966).

Sie können auch erwachsene Hamster gegen SV 40-Tumorzellen immunisieren. (Coggin, 1969).

TSTA ist für die Abstoßung transplanterter Virustumoren verantwortlich.

b) Surface-Antigen (S-Antigen)

Viele in vitro-Tests wurden gemacht, um neue Antigene auf der Zellmembran zu entdecken. Cytotoxische Tests, die spezifische Antikörper oder Immunlymphozyten benutzten, dann auch serologische Tests, die auf Antigen-Antikörper-Reaktionen beruhten. Dazu gehören auch Immunofluoreszenz- und Agglutinations-Versuche.

Tevethia u. a. entdeckten 1965 zuerst das S-Antigen in SV40-transformierten Zellen durch die indirekte Immunofluoreszenz-Methode, deren Prinzip folgendes ist: Lebende Zellen werden mit Antiseren von Tieren behandelt, die gegen Tumortransplantation geschützt sind. Die Reaktion zeigt sich an den Zellmembranen in Form eines Ringes rund um die Zelle.

Irlin u. a. zeigten dasselbe 1967 bei Polyoma-transformierten Zellen.

Auch in Papillom-Virus induzierten lebenden Fibrom-Zellen wurde ein S-Antigen mit derselben Methode entdeckt. (Barthold, Olson, 1974)

Die Serum-Antikörper-Aktivität konnte durch Absorption mit Tumorzellen beseitigt werden, nicht mit normalen Zellen. Die Antikörper-Titer zeigten eine Beziehung zum Beginn des Tumorstadiums, aber nicht zum Fortschreiten oder zur Regression.

Das S-Antigen ist ebenfalls spezifisch für das Virus, d. h. daß es wahrscheinlich vom Virus-Genom kodiert wird. Es erscheint früh, in manchen Fällen schon 3 Stunden nach der Infektion. Es könnte aber auch durch eine Veränderung der Kohlenhydrate der äußeren Schicht der Zellmembran entstehen.

Eine andere Möglichkeit ist, daß durch die Virusinfektion latente Viren aktiviert werden, die immer in der Zell-DNA vorhanden waren und die dann die Membranreaktionen auslösen (siehe Kapitel 5, Onkogenhypothese). Versuche bei Polyoma-transformierten Zellen zeigen, daß es wenigstens 2 Arten von S-Antigenen gibt: Ein

frühes Antigen, das im abortiven Zyklus erscheint und von der Hälfte des viralen Genoms kodiert wird, und ein spätes Antigen, das nur bei transformierten Zellen zu finden ist. Dieses späte S-Antigen könnte abhängig sein von der Wirtszelle und nicht vom Virus (G. Meyer, 1971).

Man machte Versuche, um TSTA und S-Antigene zu unterscheiden (G. Meyer, 1969) und fand heraus, daß zur Kodierung des TSTA nur ein Fünftel des viralen Genoms benötigt wird im Gegensatz zur Hälfte bei S-Antigen.

Tevethia hat 1968 den Unterschied zwischen beiden anhand einer defekten Mutante von SV40 bewiesen, die kein TSTA erzeugte, aber S-Antigen.

Das S-Antigen kann auch ein normales Zell-Antigen sein, das sonst unterdrückt wird und durch SV40 während der Transformation befreit wird (Häyry und Defendi, 1970).

Zellen, die durch Adenovirus 12 transformiert wurden, können T-Antigen verlieren, aber sie behalten S-Antigen. Wahrscheinlich verlieren sie auch die Adenovirus genetische Information und TSTA, wie man es bei SV40 entdeckte. Bestimmte transformierte Zelllinien, die keine SV40 DNA mehr enthielten und kein T-Antigen, enthielten immer noch S-Antigen. (Levine u.a., 1970)

Die Produktion von S-Antigen ist daher unabhängig von der Gegenwart von SV40-DNA in transformierten Zellen.

Die biologische Bedeutung der Oberflächenantigene ist groß. Immunologisch kompetente Tiere können Tumorzellen auf Grund ihrer veränderten Antigenstrukturen als fremd erkennen und sie eliminieren.

3.2.2. Störungen des Informationsaustausches mit der Nachbarzelle

Welche Impulse den Informationsaustausch zwischen den Zellen steuern, ist noch nicht bekannt. Es können

chemische Überträger sein, sogenannte Chalone, das sind Enzyme, die von den Zellen selbst produziert werden. Eine Tumorzelle würde dann also durch den Verlust von Chalonen oder durch den Verlust der Reaktionsfähigkeit gegenüber Chalonen charakterisiert sein.

Es könnten aber auch physikalische Impulse sein, z.B. UV-Photonen $\rightarrow$. Eine Tumorzelle würde dann durch den Verlust dieser Biosignale entstehen, die vielleicht von den Viren absorbiert wurden.

Für die Regulation des Zellwachstums sind höchstwahrscheinlich Eigenschaften der Zelloberfläche wichtig.

Normale Zellen brauchen für ihr Wachstum in Kulturen eine feste Unterlage, Glas oder Plastik, aber virus-transformierte Zellen wachsen auch in einem halbflüssigen Medium. (Sanders und Burford, 1964)

Eine transformierte Zelle ist ja vor allem durch den Verlust der Wachstumsregulation im Zellverband ausgezeichnet. Bei normalen Zellen kommt es zu 2 Phänomenen, wenn sie aneinanderstoßen:

1. Hemmung der Vorwärtsbewegung
2. Hemmung der Mitosen.

Bei der Transformation sind entweder beide oder eines verändert; z. B. verlieren Fibroblasten-ähnliche virus-transformierte Zellen die parallele Orientierung, sie überlappen sich und die Mitosenrate steigt. (V. Defendi, 1966)

Einige isolierte transformierte Zellen können sich nicht ausbreiten, bis die Zellen ihrer Umgebung auch transformiert sind. Transformierte Zellen wachsen schneller als normale und sind resistenter gegen Antibiotika, Benzpyren und Methylcholanthren, so kommt es zur Selektion.

Wallach (1969) interpretiert die Kontakthemmung so:

"Kontakthemmung braucht beides, einen Sender und einen Empfänger..., die neoplastische Zelle kann eine spezifische Botschaft, die zur Kontakthemmung führt, empfangen, aber sie nicht an eine andere transformierte Zelle

weetersenden."

Dulbecco (1969) sah das Zellwachstum von Zellen, die durch onkogene Viren transformiert worden waren, im Mikroskop. Es gab keine Kontaktbemmung, die Zellen überlappten sich, die zentralen Zellen wurden nekrotisch, die Nukleoli unregelmäßig und übergroß, das Chromatin verdichtete sich und wurde basophiler, das Zytoplasma war nur gering entwickelt, die Zellgrenzen verwischt.

Im Elektronenmikroskop wurden die Veränderungen an den Membranen transformierter Zellen während des Wachstums in Kulturen genauer untersucht. (Duhai und Cesarini, 1967) "Die Aktivität der Mikropenocytose und die Anwesenheit von zytoplasmatischen Fasern zeigten mehr oder weniger zyklische Varianten: Sie schienen nach und nach abzunehmen. Im Gegensatz dazu waren in allen transformierten Serien Mikrofasern reichlich vorhanden, die eine Zunahme der Glykolyse-Aktivität zeigten."

Die Mikrofasern spielen wahrscheinlich bei der Zellbewegung eine Rolle, und ihre größere Anzahl in transformierten Zellen ist verantwortlich für die erhöhte Mobilität und den erhöhten ATP-Verbrauch." (G. Meyer, 1971)

Die Dicke des Zellrasens nahm, im Elektronenmikroskop gemessen, in transformierten Zellen zu, d. h. die Menge des elektronegativen Materials nahm zu.

Sie beträgt bei normalen Zellen 13 nm, bei SV40-transformierten Zellen 23 nm und bei Adenovirus 12-transformierten Zellen 33 nm.

Es gibt auch Veränderungen, qualitative oder quantitative, in den Membran-Glykoproteinen und -Glykolipiden während der Transformation. Eine Polyoma-transformierte Zelle enthält nur ein Fünftel der Hematoside von normalen Fibroblasten, dagegen 10 mal soviel Lactosylceramide. Die Hematoside spielen bei der Kontaktbemmung eine Rolle, das haben Versuche ergeben. (Hakomoni und Mura-

kami, 1968)

Es gab in transformierten Zellen auch eine Zunahme der Neutral- und Aminosucker.

Die Enzymaktivitäten waren in transformierten Zellen ebenfalls erhöht. W. A. Strohl (1973) zeigte eine veränderte Wachstumsregulation bei Adenovirus 12-transformierten Zellen. Normale Zellen wachsen schnell bei hoher Konzentration von Serum, aber sie stoppen ihr Wachstum bald bei niedrigerer Konzentration. Transformierte Zellen wachsen zur selben endgültigen Zelldichte, gleichgültig in welchem Serum.

Kurze Zusammenfassung der Zellveränderungen durch
Tumurviren

	Zellkern	Zellmembran
Antigene	T-Antigen	TSTA S-Antigen
Struktur- veränderungen	Chromosomen- brüche Polyploidie Unregelmäßige und übergroße Nukleoli Verdichtung des Chromatins Verstärkte Basophilie	Zunahme der Mikrofasern Zunahme des elektronegativen Materials Zunahme der Neutral- und Aminozucker qualitative und quantitative Veränderungen der Glykoproteine und Glykolipide
Besonderheiten	Integration des viralen Genoms in die Zell-DNA Verstärkte Mito- serate Virus-spezifische RNA	Verlust der Wachstumsregula- tion im Zellver- band

4. Unterschiede von DNA- und RNA-Tumorzellen

4.1. DNA-Tumorzellen

4.1.1. Übersicht über die bekannten DNA-Tumorzellen

a) Parvoviren	Kilham-Ratten-Virus
b) Papovaviren	Mäuse-Polyoma-Virus
	Simian Virus 40 = SV40
	Shope Papillom-Virus
	Menschl. Warzenvirus
	Schweine-Papillom-Virus
	Kaninchen-Papillom-Virus
c) Adenoviren	
Gruppe I	Typ 12, 18, 31
Gruppe II	Typ 3, 7, 11, 14, 16, 21
d) Herpesviren	Epstein-Barr Virus
	Marek's Virus
	Lucké-Tumor Virus
	Herpesvirus soimiri
e) Pockenviren	Kaninchen-Myxom-Virus
	Kaninchen Fibrom-Virus
	Eichhörnchen Fibrom-Virus
	Yaba-Tumor-Virus

(Tabelle aus: M. Essex, Oncology 1972, Band 26,
S. 346)

Anhand einiger Beispiele will ich nun die Onkogenität,
die bevorzugten Spezies, die Art der Tumoren und ge-
legentliche Reversionen beschreiben.

4.1.2. SV4o (Simian Virus 4o)

Das Simian (=Affen)Virus 4o, 196o von Sweet und Hilleman entdeckt, ist das am besten untersuchte Modell-DNA-Tumorstadium.

Es wurde aus Nierenzellkulturen normaler Rhesusaffen gewonnen. Es gehört zur Gruppe der Papovaviren. (Melnick, 1962)

Pa = Papillomviren, Po = Polyomavirus, Va = Vacuolisierend = SV4o. Diese Viren sind sich sehr ähnlich.

SV4o kann nur in jungen Hamstern Tumoren erzeugen, wobei die Rate abnimmt, je älter die Hamster sind. In neugeborenen Hamstern kommt es zu 90% Tumoren. Die Latenzzeit schwankt zwischen 3 Monaten und einem Jahr, abhängig vom Alter der Tiere und von der Viruskonzentration. (J. S. Butel, 1972)

In vitro gelingt mit SV4o auch die Transformation von Mäusezellen (Todaro und Green 1964), Kaninchenzellen (Black und Rowe, 1963), Rattenzellen (Diderhalm, 1966), Affenzellen (Fernandes und Moorhead, 1965) und auch von menschlichen Zellen (Koprowsky, 1962).

Zellen von Patienten mit Krankheiten, die auf Chromosomenveränderungen beruhen, wie Down's Syndrom, Klinefelter's Syndrom u.a., sind besonders empfänglich für die Transformation.

Bei Hamstern, die am sorgfältigsten untersucht worden sind, können fast alle Gewebe transformiert werden. SV4o konnte auch Mäusezellen vom Stamm 3T3 transformieren, die schon mit Polyomaviren transformiert worden waren (Todaro und Green, 1965). Die Zellen enthielten dann die T-Antigene beider Viren.

SV4o-induzierte Tumoren enthalten in der Regel keine infektiösen Viren. Diese können aber wieder auftauchen nach geeigneter Behandlung (vergleiche Kapitel 2). Die Tumorzellen müssen durchgängig sein für die "subvirale Information". (P. Gerber, 1966) Ebenfalls fördernd wirken Cytosinarabinsid und Hitze.

Aber nicht aus allen SV40-transformierten Zellen lassen sich wieder Viren isolieren.

Wahrscheinlich ist die Transformation durch SV40 verbunden mit der Integration des gesamten für die Synthese von infektiösen Viren verantwortlichen Genoms oder aber mit der Integration nur des Teils des Genoms, das mit der Synthese des neuen zellularen Antigens zu tun hat.

Man entdeckte SV40-Pseudovirionen, die zelluläre DNA von 14S enthielten, in AGMK-Zellen (African Green Monkey Kidney cells) (Levine und Teresky, 1970). Diese enthielten einige zelluläre DNA-Moleküle, die vor der Infektion und einige, die nach der Infektion synthetisiert wurden. Die Menge der Pseudovirionen variierte von 0,03 - 0,3%.

Normalerweise ist die Transformation von Zellen irreversibel. Aber es gibt auch Ausnahmen, wie eine Fibroblastenlinie von H 5o-Zellen (Tevethia, 1971), die nach Transformation mit SV40 revertierte. Sie waren noch transplantierbar und enthielten SV40-TSTA. Die Transkription des SV40 Genoms und die Zellveränderungen durch SV40 mit neuen Antigenen wurden in Kapitel 3, 3.1.4 und 3.1.5, 3.2.1 besprochen.

4.1.3. Polyomavirus

Es wurde 1951 von L. Gross bei Mäusen entdeckt, die Leukämie hatten. Sein Name Polyoma = Vieltumorerzeuger besagt schon, daß dieses Virus viele verschiedenartige Tumoren erzeugt, z. B. Parotis-, Thymus-, Brust- und Hauttumoren, also Karzinome, aber auch Knochensarkome bei Mäusen, Hamstern, Kaninchen und Ratten. Aber es entstehen nur Tumoren, wenn das Virus kurz nach der Geburt parenteral injiziert wird. Für die Transformation genügt es, wenn ein Viruspartikel eine Zelle infiziert.

Im Gegensatz zu SV40 war es bei Polyoma-transformierten Zellen lange Zeit nie gelungen, die Produktion infektiöser Viren zu induzieren, mit keiner Methode. Doch Fogel und Sachs gelang es 1969 mit Röntgen-, UV-Strahlen und Mitomycin C bei etwa der Hälfte ihrer Zellen.

Auch bei Polyomaviren entdeckte man Pseudovirionen, die Fragmente der Zell-DNA enthielten. (Yelton und Aposhian, 1972). Sie wurden 36 Stunden nach der Infektion entdeckt. Die Anzahl der intrazellulären 14 S Zell-DNA war 7 Mal größer als die synthetisierte Polyoma-DNA, deren Replikation schon 18 Stunden nach der Infektion begonnen hatte.

Durch Polyomaviren transformierte Hamster-Embryo-Fibroblasten zeigten in manchen Fällen eine Reversion der Eigenschaften, die typisch für die Transformation sind (Rabinowitz und Sachs, 1970). So zeigten sie wieder Kontakthemmung, ihre Zelloberfläche war verändert, die Dichte nahm ab. Aber alle Zellen synthetisierten weiterhin das Polyoma T-Antigen, hatten aber das TSTA ganz oder teilweise verloren.

Die revertierten Zellen, die von Marin und Macpherson 1969 beobachtet worden waren, schienen die viralen Gene verloren zu haben, denn sie zeigten weder T-Antigen noch Transplantationsantigene. Die Zellen konnten mit Polyomaviren wieder transformiert werden. Vielleicht war die Reversion die Folge eines Verlustes der Zellgene, die für die veränderten Zelleigenschaften in transformierten Zellen benötigt werden.

Reversionen kommen also vor. Es gibt komplette, die wahrscheinlich auf dem Verlust der transformierenden viralen Gene beruhen, und inkomplette, wobei die virus-spezifischen Antigene noch vorhanden sind, aber die Zelleigenschaften sich verändert haben.

Genauerer kann man über den Mechanismus der Reversion von Virus-transformierten Zellen bis jetzt noch nicht sagen.

4.1.4. Adenoviren

Es gibt eine ganze Reihe von Adenoviren, die als onkogen anerkannt sind. Ich habe sie in der Übersicht aufgezählt. Besonders onkogen ist das Adenovirus Typ 12, das beim Menschen Erkältungskrankheiten erzeugt, für neugeborene Hamster. Auch Affen-Adenoviren rufen bei Hamstern Tumoren hervor. Diese können größer werden als die Hamster selbst und metastasieren schnell. Die meisten sind Lymphome oder Sarkome (Merkow und Slifkin, 1973).

Weibliche Tiere sind empfänglicher als männliche. Es können in fast allen Geweben Neoplasmen durch onkogene Adenoviren erzeugt werden, auch intracranielle Tumoren. Diese Neoplasmen sind sich alle ähnlich, gleich welcher Ort der Einimpfung auch gewählt wird. Das Muster der Tumoren bestimmen die Viren innerhalb biologischer Grenzen der Organe. Im Gegensatz zu SV40, wo es mehr auf das betroffene Organ ankommt, welcher Art die Tumoren sind. SV40 hat weniger als 10 Gene, Adenoviren mehr als 20, daher mag ihre führende Rolle bei der Bestimmung der Tumorart kommen.

Vergleich von Polyoma-, Adenoviren und SV40 hinsichtlich ihrer physikalischen und molekularen Daten:

	Polyoma	SV40	Adenoviren
Größe	45 μ	45 μ	72 μ
Symmetrie	Ikosaeder	Ikosaeder	Ikosaeder
Kapsomere	42 (72)	42 (72)	252
Dichte	1.32	1.32	-
Nukleinsäure	DNA	DNA	DNA
DNA-Gewicht	12%	-	-
DNA-Stränge	Doppelstrang	Doppelstr.	Doppelstrang
% Guanin + Cytosin	48	41	40
MG, DNA	$3,4 \cdot 10^6$	$3,2 \cdot 10^6$	$25 \cdot 10^6$
DNA-Form	Linear	Linear	Linear

Man fand einen Zusammenhang zwischen der Onkogenität der Menge von Guanin und Cytosin der DNA, aber der Beweis fehlt noch. Eine geringe Menge Guanin + Cytosin soll die Tumorrates erhöhen.

Die genetische Information für die Transformation umfaßt bei den onkogenen Adenoviren nicht das ganze virale Genom, sondern nur einen kleinen Teil; einzelne abgetrennte DNA-Moleküle können Tumoren induzieren.

4.1.5. Defekte DNA-Tumoviren

Defekte SV40 Tumoviren kann man durch Bestrahlung oder Behandlung mit Hydroxylamin erhalten.

Nach ultravioletter oder Gammabestrahlung behält SV40 nicht nur seine Onkogenität in neugeborenen Hamstern, sondern zeigte eine gesteigerte Fähigkeit, Tumoren zu produzieren (Defendi und Jensen, 1967).

Vielleicht fehlt den Tumoren, die von defekten Viren erzeugt wurden, das TSTA, und sie wachsen deshalb schneller.

Es gibt auch natürlich vorkommende SV40-Partikel, die defekt sind. Sie können keine späten viralen Proteine und keine infektiösen Viren synthetisieren, aber SV40 T-Antigen. Sie sind onkogen in neugeborenen Hamstern (Uchida und Watanabe, 1969).

Ein ungewöhnliches, natürlich vorkommendes Virus ist das PARA, das defektes SV40-Genom in Adenovirus 7-Hüllen enthält (Huebner, 1964).

PARA-Adenovirus 7 produziert Tumoren vom SV40-Typ in neugeborenen Hamstern, induziert SV40-T-Antigen und SV40-TSTA.

Das beweist wieder, daß die Synthese später viraler Proteine für die Induktion von SV40-T-Antigen, TSTA und für die Transformation nicht nötig ist. Das PARA unterstützt die Replikation von Adenoviren, es braucht diese aber auch zur eigenen Replikation. Durch PARA-

Adenoviren Typ 7 transformierte Zellen haben das T-Antigen im Zytoplasma (Duff und Rapp, 1970). Wahrscheinlich hat da das SV40-Genom einen weiteren Defekt, der es nicht zuläßt, daß das T-Antigen zum Zellkern wandert.

Bei PARA wurde auch das neue U-Antigen entdeckt. Es sitzt auf der Zellkernmembran, ist hitzeverträglich, aber empfindlich gegen DNA-Synthese-Hemmstoffe.

Das SV40-Genom kann von seiner Adenovirus 7-Hülle in andere menschliche Adenovirus-Hüllen überführt werden. Diesen Vorgang bezeichnet man als "Transkapsidation".

PARA-Partikel in Adenoviren vom Typ 14, 16 und 21 sind nicht onkogen, in Adenoviren vom Typ 1, 2, 3, 5, 6 und 12 sind sie onkogen für neugeborene Hamster. Die nicht-onkogenen Varianten von PARA konnten aber in vitro Hamsterzellen transformieren (Butel u.a., 1971)

Die Erklärung liegt vielleicht im Immunabwehrsystem, das in vitro nicht vorhanden ist. Wahrscheinlich variiert die Mindestzahl der Zellen, die in vivo transformiert werden muß, um einen Tumor hervorzubringen, von einem Tier zum anderen, abhängig vom immunologischen und vom Allgemeinzustand des Tieres.

Wenn PARA von Adenovirus Typ 7 in die Hülle des sehr onkogenen Adenovirus Typ 12 übertragen wird, erzeugt es SV40 Tumoren mit einer sehr kurzen Latenzzeit von 5 - 7 Wochen.

Die temperatur-empfindlichen Mutanten

Die ts (= temperature-sensitive) Mutanten können benutzt werden, um die viralen Funktionen, die für die Replikation bzw. für die Transformation benötigt werden, herauszufinden, sowohl für den Beginn als auch für die Erhaltung der Transformation.

ts-a, entdeckt 1965 von M. Fried, ist eine thermo-

sensitive Mutante von Polyoma-Virus, die sich bei 31°C vermehrt, aber nicht bei $38,5^{\circ}\text{C}$ (M. Vogt, 1970). Auch die Fähigkeit, die nicht-durchlässigen Zellen zu transformieren, ist thermosensitiv. Wenn sie einmal transformiert sind, bleiben die Zellen bei jeder Temperatur in ihrem Zustand. Die temperatur-empfindliche Funktion von ts-a wird also für die Initiierung, aber nicht für die Erhaltung der Transformation benötigt. Der temperaturempfindliche Schritt muß mit der Produktion neuer viraler DNA-Moleküle zusammenhängen, also eine frühe Funktion sein (M. Fried, 1970). Es gibt auch temperatur-empfindliche Mutanten von SV40 (Kimura und Dulbecco, 1973), z. B. ts-640, das bei 40°C weder transformieren noch replizieren kann. Vielleicht gibt es einen gemeinsamen Schritt für die Replikation der Virus-DNA bei der produktiven Infektion und bei der Transformation. Die Zellen, die bei 33°C transformiert worden waren, blieben es auch bei Erhitzung auf 40°C , d. h. daß die virale Genfunktion wie bei ts-a für den Beginn, aber nicht für die Erhaltung der Transformation verantwortlich ist.

4.1.6. Satellitenviren

Es wurden zuerst bei SV15 kleine Viren (20 - 24 nm) entdeckt, die die Adenoviren als Helferviren für die Replikation brauchen. Sie wurden daher als Adenovirus-Associated-Viruses = AAV bezeichnet (C. Henry, 1973).

Sie haben andere Antigene als ihre Helfer-Adenoviren, so kann man sie unterscheiden. Sie verursachen keine erkennbare Krankheit und vermehren sich nur in Zellen, die auch mit Adenoviren infiziert sind. Viele menschliche- und Affenadenoviren haben diese AAV.

50 - 70% der Menschen haben Antikörper gegen eine oder mehrere Sorten von AAV-Serotypen. Wegen ihrer Stabilität unter vielen Bedingungen, sie sind hitzebeständig bis 60°C , resistent gegen Äther und

Chloroform, ihrer Resistenz gegen Interferon und ihrer Ubiquität, ist ihre Überlebenschance in der Natur groß. Ob sie, ähnlich den Herpes-simplex-Viren, im Menschen als latente oder maskierte Viren bleiben können, bis sie von einem Helfervirus wieder "erweckt" werden, ist noch nicht bekannt. Es gibt auch bisher keinerlei Anhaltspunkte dafür, daß sie für die Karzinogenese irgendeine Bedeutung haben.

4.2. RNA-Tumor-Viren

4.2.1. Übersicht über die bekannten RNA-Tumoviren

Oncornaviren

Mäuse-Mamma-Tumovirus
Retikuloendotheliose Virus
Vögel-Leukose-Viren
Vögel-Myeloblastose-Virus
Vögel-Erythroblastose-Virus
Vögel-Sarkom-Viren
Ratten-Leukämie-Viren
Ratten-Sarkom-Viren
Katzen-Leukämie-Virus
Katzen-Sarkom-Virus

(Tabelle aus: M. Essex, Oncology 1972, Band 26, S. 346)

4.2.2. Allgemeine Eigenschaften

Größe: 10 nm im Durchmesser, äußere Lipoid-haltige Membran mit Antigenen, Einstrang-RNA von 60 - 70 S = 200 Nukleotide, sphärische innere Struktur. Das Virion besteht aus 30% Phospholipiden, 50% Proteinen, 2% RNA, der Rest aus Kohlenhydraten und Aminosucker. Im Gegensatz zu den meisten DNA-Tumoviren können sie sich auch in transformierten Zellen weiter vermehren.

4.2.3. Transkription der RNA-Tumoviren

Alles in den vorherigen Kapiteln Beschriebene schien sich ausschließlich auf die DNA-Tumoviren zu beziehen.

In den letzten Jahren ist aber gerade die Erforschung der RNA-Tumoviren immer mehr in den Vordergrund gerückt.

Durch die Entdeckung einer RNA-abhängigen DNA-Polymerase = Reverse Transkriptase in RNA-Tumoviren, von D. Baltimore 1970 im Rauscher Leukämie-Virus, von Temin und Mizutani, 1970 beim Rous Sarkom Virus und von Rokutanda 1970 bei Sarkom-Leukämie-Viren entdeckt, erhielt die gesamte Virus-Krebsforschung einen enormen Auftrieb.

Nun war es wahrscheinlich geworden, daß DNA- und RNA-Tumoviren einem gemeinsamen Mechanismus unterliegen. Das erleichtert die virale Tumorforschung enorm.

Nur die RNA-Tumoviren enthalten diese RNA-abhängige DNA-Polymerase, nicht die anderen RNA-Viren.

Im Gegensatz zu diesen sind die RNA-Tumoviren empfindlich gegenüber Actinomycin D, das ihre Produktion verhindern kann.

Die DNA-Polymerase ist ein Teil der RNA-Virionen. Die Schablone ist die virale RNA. Die Hauptschablonen sind die RNA-Moleküle mit hohem Molekulargewicht. Die entstehende Einstrang-DNA ist eine komplette Kopie des gesamten viralen Genoms (Garapin u.a., 1973).

Eine Stunde nach der Infektion zeigt sich in der Gegend der Plasma-Membran Thymidin-H.-Aktivität. Die initiale DNA-Kopie von viraler RNA wird in der Plasmamembran 1 - 10 Stunden nach der Infektion synthetisiert (Kakefuda u.a., 1974).

Die Aktivität der DNA-Polymerase kann durch Ribonuclease unterdrückt werden.

Die Einstrang-DNA muß dann in Doppelstrang-DNA verwandelt werden durch eine DNA-abhängige DNA-Polymerase.

Diese wurde auch gefunden in den Virionen von 6 onkogenen Viren, RLV, RSV, AMV, MSV, FeLV, MTV (Spiegelmann, 1970).

Die DNA, die zuerst entsteht, dient dann als Schablone für die endgültige Polymerisation.

Die so entstandene Doppelstrang-DNA wird dann in die Zell-DNA eingebaut, und von nun an läuft die Transkription weiter wie bei den DNA-Tumroviren.

Es gibt auch in normalen Zellen Reverse-Transkriptase-Aktivität, z.B. in Hühnerembryonen, aber diese unterscheidet sich von der in RNA-Tumroviren (R.C. Gallo, 1973).

Man konnte bisher nicht feststellen, daß die reverse Transkriptase der Hühnerembryonen die Transkription viraler RNA katalysiert.

Kürzlich wurde in RNA-Tumroviren ein neues Enzym "RNase H entdeckt, dessen Bedeutung man noch nicht kennt. Außerdem fand man heraus, daß RNA-Tumroviren in der nicht-infektiösen Form keine RNA-abhängige DNA-Polymerase haben (Dmochowsky, 1973).

4.2.4. Beispiele von RNA-Tumroviren

Die Oncornaviren sind weitverbreitet in allen Organismen. Sie sind u.a. onkogen für Hühner, Mäuse, Ratten, Katzen, Affen und Menschen. Sie verursachen Leukämien und Sarkome, das sind die RNA-Tumroviren vom Typ C, und Mammacarzinome, das sind die RNA-Viren vom Typ B.

a) Mäuse-Mamma-Tumor-Virus (MMTV)

Viruspartikel konnten besonders mit biochemischen Methoden in Mäuse-Mamma-Tumoren während ihrer Wachstumsphase entdeckt werden, dagegen nicht in spontan regressiven Tumoren. Die Mamma-Tumoren können durch Viren verursacht sein, die bei der Geburt auf die Mäuse übertragen wurden.

Röntgenstrahlen und Urethran lassen endogene Viren frei; beide sind bekannt als immunsuppressive Agentien. So können sie die Replikation der MMTV erleichtern (Hohlmann u.a., 1974). Es gibt 2 Möglichkeiten, die spontane Regression einiger Tumoren zu erklären:

1. Die MMTV produzieren Antigene auf den Oberflächenmembranen von Tumor-Zellen.
2. Die Mäuse besitzen ein sehr gutes RES. Ihre Blutseren enthielten hohe Antikörper-Titer gegen MMTV.

b) Rous-Sarkom-Virus (RSV)

Von Peyton Rous 1910 in Hühnersarkomen entdeckt. Auch bei RSV-transformierten Zellen gibt es Revertanten (Macpherson, 1966). Die vertierten Zellen zeigten eine veränderte Morphologie, konnten nicht mehr zu Tumoren wachsen, hatten keine virus-spezifischen Antigene mehr und waren resistent gegen eine Retransformation mit RSV. Die Reversion war höchstwahrscheinlich durch einen Verlust der viralen Gene bedingt.

c) Typ C-Viruspartikel

Aus verschiedenen Mäusetumoren wurden Typ C-Viren gewonnen. Dabei wurden aus 51% der Zellen Viren gewonnen, aber 75% hatten gs-Antigene (Peters u.a., 1973). Es scheinen unterdrückte Virogene vorhanden zu sein, die diese Antigene produzieren.

Infektiöse Typ C-Viren sind onkogen für lymphatische Gewebe, obwohl lymphoretikuläre Neoplasmen oft keine Viren aufweisen. Ein endogenes Onkogen kann die Ursache sein. Es scheint, daß die infektiöse Form von endogenen Viren nur selten solide Tumoren induzieren kann.

Typ C-Partikel wurden isoliert von einem spontanen Mamma-Adeno-Carcinom bei Ratten (Chopra und Oie, 1972). Sie hatten eine 60 - 70 S-RNA, eine Dichte von $1,16 \text{ g/cm}^3$ und eine RNA-abhängige DNA-Polymerase.

Ähnliche, aber nicht identische Viruspartikel wurden in Mamma-Carcinomen von Rhesusaffen entdeckt. Sie hatten exzentrische Nukleotide, eine Dichte von $1,16 \text{ g/cm}^3$, eine 60 - 70 S-RNA, eine Reverse Transkriptase und ähnelten den Typ B-Viruspartikeln von MMTV. Es gibt serologisch keine Kreuzreaktion mit anderen onkogenen Viren.

In Thailand wurden auch bei freilebenden Affen Typ C-Lymphom- und Sarkomviren gefunden (T. O'Connor, 1973). Auch bei Schweinen gibt es viele Lymphosarkome. Man entdeckte in Kulturen von Schweinelymphomgewebe Typ C-Viren im Elektronenmikroskop. Nach Behandlung mit Brd Urd und DMSO wurden sie 7 Monate lang vermehrt produziert (Strandström u.a., 1974).

Ebenfalls im Elektronenmikroskop wurden Typ C-Partikel bei Katzen-Mammacarcinomen gesehen (Weijer u.a., 1974).

RNA Typ C-Viren gibt es in normalen Zellen bei vielen Tieren. Bei Mäusen und Hühnern findet man sie in unterdrückter Form in jeder Zelle (M. Gelb, 1973).

Der größere Teil der von Typ C-Viren synthetisierten DNA ist komplementär zu einem relativ kleinen Teil des viralen Genoms.

Die RNA-Tumorstoffvirus-spezifische DNA ist mit der Zell-DNA kovalent verbunden, das trifft sicher zu für das Rous Sarkom Virus und die Leukämie-Viren. Ob es bei der Typ C-Virus spezifischen DNA auch der Fall ist, oder ob sie als freies Molekül existiert, weiß man noch nicht. Antigene, die eine Kreuzreaktion mit 2 Mäuse-Typ C-viralen Polypeptiden zeigten, sind in niedrigen Konzentrationen in normalen virus-negativen Mäusezellen gefunden worden. Ihre Typ-spezifische Antigenität war verschieden von der bei Ratten-Leukämie-Viren. Scheinbar sind sie Komponenten einer neuen Klasse endogener Typ C-Viren (Stephenson u.a., 1974).

4.2.5. Gemeinsamkeiten mit den DNA-Tumroviren

Wie durch DNA-Tumroviren werden auch durch RNA-Tumroviren die Zellmembranen verändert, und auch hier wurden Transplantationsantigene entdeckt. RNA-Tumroviren können also Normalzellen ebenso verfremden wie die DNA-Tumroviren.

Aoki, Huebner u.a. (1974) fanden bei den Typ C-Viren verschiedene VEA's (viral envelope antigens) und teilten sie danach ein:

- a) Gruppenspezifische: für alle Typ C-Viren
- b) Untergruppen-spezifische: typisch für MuLV
- c) Typen-spezifische: bei einigen Leukämieviren
- d) Unter-Typen-spezifische

Eine Leukämiezelle kann verschiedene VEA's besitzen und ein Virus kann verschiedene VEA's haben.

Also gibt es verschiedene Klassen von Typ C-Viren. Noch nicht bekannt ist, ob die Verschiedenheit der Viren etwas mit den verschiedenen Krankheiten zu tun hat. Auch bei den RNA-Tumroviren gibt es defekte Viren, z.B. solche, die ihre Hülle nicht selbst produzieren können, wie das defekte SV40. Diese benötigen dann "Helfer"-Viren für ihre Vermehrung.

Die meisten Säugetiersarkomviren gehören zu dieser Art defekter Viren, auch das Rous Sarkom Virus. Sie brauchen zur Vermehrung, nicht zur Transformation "Helfer"-Leukämieviren (Stephenson und Aaronson, 1974).

Übersicht über die wichtigsten Merkmale von DNA- und RNA-Tumorzellen

	DNA-Tu-Viren	RNA-Tu-Viren
Wichtigste Vertreter	SV40 Polyoma Adenoviren	MMTV Rous-Sarkom-Virus Typ C-Viren
Größe	40 - 90 nm	90 - 110 nm
Hülle	Ø	+
Nukleinsäure	DNA	RNA
Transformation	SV40: bei jungen Hamstern in vitro: Mäuse-, Ratten-, Affen-, Menschenzellen Polyoma: bei Mäusen, Hamstern, Kaninchen, Ratten Adenovirus 12: bei jungen Hamstern	MMTV: bei Mäusen RSV: bei Hühnern Typ C-Viren: bei Hühnern, Mäusen, Ratten, Katzen, Affen, Menschen
Virusproduktion in transformierten Zellen	Ø	+
Vorwiegend erzeugte Tumorarten	Onkogen für fast alle Gewebe, meist Karzinome	Mammakarzinome Leukämien Sarkome

Defekte Viren	PARA temperaturempfind- liche Mutanten z.B. ts-a, ts-64o	Säugetiersarkom- viren, z.B. Rous-Sarkom- Virus
Revertanten	bei SV4o, Polyoma	beim Rous-Sarkom- Virus
Transplantations- antigene	TSTA	verschiedene VEA's
Besonderheiten	Satellitenviren	RNA-abhängige DNA-Polymerase= reverse Transkriptase

5. Onkogen- und Protovirushypothese

5.1. Onkogenhypothese

Die von R. J. Huebner und G. J. Todaro 1969 aufgestellte Onkogen-Hypothese besagt, daß alle Wirbeltierzellen in ihrem Genom die Information enthalten, um Oncornaviren zu produzieren, die sogenannten Virogene. Ein Teil dieser Virogene sind Onkogene, verantwortlich für die Transformation einer Zelle. Sie werden von Generation zu Generation weitervererbt als Teil des normalen Zellgenoms.

Normalerweise werden sie durch spezifische Repressoren unterdrückt und sind daher inaktiv. Durch äußere Faktoren jedoch, die in die Regulationskette der Repression eingreifen, können sie aktiviert werden, z. B. durch chemische Karzinogene, Röntgen- und UV-Strahlen, DNA-Tumurviren oder normale Altersprozesse, so daß es auch von der Zelle selbst abhängt, ob sie transformiert wird oder nicht. "Die Onkogen-Hypothese besagt also, daß Krebs eine Störung des normalen Repressor-Systems, das die Information von vertikal übertragenen Virogenen und Onkogenen kontrolliert, zur Voraussetzung hat." (H. zur Hausen, 1973). Wichtig wäre es nun zu erforschen, wie eine normale Zelle die Onkogene und Virogene unterdrückt.

Zu dieser Hypothese führten einmal die außerordentliche Verbreitung der Oncornaviren, zum anderen Beobachtungen, daß zumindest normale Geflügel- und Mäusezellen die genetische Information von RNA Typ C-Tumurviren in ihrem Genom enthalten.

Biochemische Studien zeigten, daß normale Mäusezellen eine DNA enthalten homolog der 70 S-RNA des Mu LV-Virions, 14 DNA-Equivalente pro Zelle (M. Gelb, 1973).

5.2. Protovirushypothese

Im Gegensatz zur Onkogen-Hypothese stützt sich die 1972 von H. M. Temin aufgestellte Protovirushypothese vor allem auf die Entdeckung der reversen Transkriptase.

Nach Temin existieren in jeder zellulären DNA von Wirbeltieren, aber im Gegensatz zur Onkogenhypothese nicht in den Geschlechtszellen, Abschnitte, die den Nukleotidsequenzen der Oncornaviren außerordentlich ähneln. Diese Bereiche bewirken die Synthese der reversen Transkriptase, die die RNA von den entsprechenden Abschnitten wieder in DNA überschreiben kann.

Protoviren sind danach DNA Polymerase-RNA Komplexe, die sich in normalen Zellen befinden (Mizutani, 1973). Sie spielen bei der normalen Zellentwicklung eine Rolle, und aus ihnen entwickeln sich auch die RNA-Tumoviren.

Die RNA-Tumoviren übertragen ihre genetische Information mit Hilfe der RNA-abhängigen DNA-Polymerase in DNA, die fest in die Zell-DNA integriert wird. Die Struktur in der Zell-DNA, die die virale Information enthält, heißt "Provirus".

In beiden, RNA-Tumoviren und zellulären Protoviren, sind die RNA-abhängigen DNA-Polymerasen (RDDP) der Schlüssel für den Informationsaustausch.

In nicht-infizierten Ratten-Zellen und normalen Hühner-Embryo-Zellen fanden sich endogene RNA-abhängige DNA-Polymerasen in Zellkernen und Mitochondrien. Sie waren empfindlich gegen Ribonuclease, unempfindlich gegen Desoxyribonuclease und teilweise resistent gegen Aktio-

mycin D.

Nach Entfernung der Ribonuclease konnte die DNA-Polymerase RNA von Vögel-Tumurviren als Schablone benutzen, ebenso DNA (S. Mizutani, 1973).

Daher könnte diese DNA-Polymerase eine Rolle beim Informationsaustausch von RNA zu DNA in normalen Zellen spielen.

Die wichtigsten Unterschiede zwischen Onkogen- und
Protovirushypothese

	Onkogenhyp.	Protovirushyp.
Entdeckung	1969 von R. J. Huebner und G. J. Todaro	1972 von H. M. Temin
Definition	Onkogene = Bestimmte Genabschnitte in jeder Zell-DNA, verantwortlich für die Zelltransformation	Protoviren = DNA-Polymerase-RNA-Komplexe in normalen Zellen. Aus ihnen können sich die Oncoviren entwickeln
Genetische Information für die Transformation	Im Genom aller Wirbeltierzellen in unterdrückter Form. Wird als Teil des normalen Zellgenoms weitervererbt.	Nukleotidsequenzen, die den Oncoviren sehr ähnlich, aber nicht identisch sind, in allen somatischen Wirbeltierzellen, nicht aber in den Geschlechtszellen
Transkriptionsmodus	Derepression von Onkogenen durch äußere Faktoren, z.B. Strahlung, chemische Karzinogene	RNA → reverse Transkriptase DNA (Provirus) → RNA-Virus, Modifikation der Originalinformation
Ursache des Krebses	Störung des normalen Repressor-Systems	Spontan entstandene Lesefehler bei wiederholter Überschreibung von DNA(Proviren) zu RNA

6. Kokarzinogenese-Faktoren, die die virale Karzinogenese beeinflussen

6.1. Äußere Faktoren

6.1.1. Verstärkung der viralen Onkogenität durch Strahlung und chemische Karzinogene und Mutagene

Die Behandlung von Hamster-Embryo-Zellen mit Röntgenbestrahlung (Coggin, 1969, Pollack, 1968, Stoker, 1963), UV-Bestrahlung (Casto, 1973) und den Thymidin-Analogen BCdR und BUdR erhöhten die Transformation durch SV 40 (Todaro und Green, 1964), Polyomaviren (Stoker, 1963) und menschliche Adenoviren Typ 31 (Coggin, 1969).

Synergistische Effekte zwischen Viren und Chemikalien wurden zuerst von Rous und Kidd (1938) beschrieben. Salaman (1963) zeigte eine größere Wahrscheinlichkeit für Tumoren, wenn Mäusen zuerst Polyomaviren gegeben, dann 7, 12-dimethylbenz (a) anthrazen in die Haut appliziert worden war. Freeman (1970), Price und Rhim (1971) berichteten, daß es zur Transformation von Zellen, die ständig mit RNA-Tumoviren inzidiert waren, erst dann kam, wenn sie mit gewissen chemischen Karzinogenen behandelt worden waren. Dagegen konnten die Zellen nur durch das Virus oder durch das chemische Karzinogen allein nicht transformiert werden.

Die virale Transformation wurde durch Behandlung der Zellen mit den Basenanalogen BUdR = 5 - bromodesoxyuridin und BCdR = 5 - bromodesoxycytidin (C. C. Casto,

1973) und mit den bekannten Mutagenen N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin, Coffein und Hydroxylamin (Ledinko und Evans, 1973) um das 10-fache erhöht. Die Zunahme der Transformation war direkt proportional der chemischen Konzentration bis zu einem bestimmten Maximum; danach bewirkten noch höhere Konzentrationen eine Abnahme der Transformation.

Sie ist vielleicht das Ergebnis einer Abnahme der normalen DNA-Synthese in so behandelten Zellen.

Die Vorbehandlung mit onkogenen polyzyklischen Kohlenwasserstoffen 18 Stunden vor der Gabe von onkogenen Adenoviren erhöhte die Transformationshäufigkeit. Dagegen hemmte die Behandlung 5 Stunden nach der Virusgabe die Transformation. Auch hier war die Transformationsrate direkt proportional der chemischen Konzentration bis zu einem Maximum, danach kam es wieder zur Abnahme (B. C. Casto, 1973).

Die Beobachtung, daß polyzyklische Kohlenwasserstoffe die Transformation hemmen, wenn sie nach den Viren zugefügt werden, kann ebenfalls durch ein Erliegen der normalen Zell-DNA-Synthese erklärt werden.

Mögliche Ursachen für die Stimulation:

1. Die Agentien halten zelluläre Systeme nieder, die normalerweise den Einbau der viralen DNA in die Zell-DNA vermindern.
2. Vielleicht werden durch die physikalischen und chemischen Vorgänge mehr Viren pro Zelle aufgenommen.
3. Die wahrscheinlichste Erklärung ist, daß alle genannten Agentien Mutagene sind und daher direkt an der Zell-DNA angreifen. Schon Todaro und Green glaubten 1964, daß alle Agentien, die die Chromosomen verändern, die Zunahme der Zelltransformation durch Viren fördern.

Die Agentien erreichen durch ihre Zell-DNA-Schädigung und den anschließenden Repairmechanismus eine größere

Anzahl geeigneter Stellen für die Integration des viralen Genoms.

Ohne chemische Vorbehandlung würde die Integration der viralen DNA auf Zellen beschränkt sein, die DNA vor der Zellteilung synthetisieren.

6.1.2. Andere äußere Faktoren

Andere äußere Faktoren wie Klima, Ernährung usw. spielen wahrscheinlich eine geringe Rolle bei der Krebsentstehung. Jedenfalls konnte man bis jetzt noch keine eindeutigen Feststellungen über diese Zusammenhänge machen.

Es ist nur auffallend, daß einige menschliche Virus-Tumoren wie das Burkitt-Lymphom oder das Nasopharynxcarzinom in einigen Gegenden sehr gehäuft auftreten. Aber die Ursache hierfür kennt man noch nicht.

Hinweise für einen Zusammenhang zwischen Prostata-Cervix und Blasen-Krebs mit ven~~er~~ischen Infekten, Genitalhygiene und sexueller Promiskuität gibt der Nachweis, daß die Häufigkeit dieser Tumoren bei beschnittenen Juden sehr gering ist. Das Cervixcarzinom kommt bei Nonnen fast nie vor, dagegen findet sich bei Prostituierten eine höhere Rate. Man fand auch Viren im Smegma und in Tumoren von Prostata- und Blasenkrebspatienten.

6.2. Wirtsfaktoren

6.2.1. Genetische und humorale Faktoren

Ein sehr überzeugendes frühes Beispiel für den Zusammenhang von genetischen und humoralen Faktoren mit der Viruskarzinogenese stellt das von Bittner 1936

untersuchte Mäuse-Mamma-Karzinom dar. Hierbei muß alles zusammenkommen, eine genetische Veranlagung, genügend weibliche Hormone müssen vorhanden sein, und die jungen Tiere müssen von Müttern, deren Milch das Krebsvirus enthält, gesäugt worden sein, damit ein Mammacarzinom entstehen kann. Hormonale Faktoren spielen auch eine wichtige Rolle bei der Adenovirus 12 Onkogenese.

Die weiblichen Hamster entwickeln mehr Tumoren als die männlichen. Ihre Tumoren wachsen schneller und haben eine kürzere Latenzzeit. Ebenso ist es bei der Transformation mit Adenovirus Typ 7 und Typ 18, SV 20, Celo, SA 7 (Yohn, 1973).

Dieser Unterschied beruht nicht auf äußeren Faktoren. Es müssen also innere Faktoren dafür verantwortlich sein. Die Adenovirus 12 Onkogenese war in beiden Geschlechtern gleich, wenn den Tieren im Alter von 1 Woche die Gonaden entfernt worden waren.

Ovorektomie allein ergab auch eine viel geringere Tumormorrate.

Die Adenovirus 12-Tumoren nahmen zu nach Gabe von 0,05 mg Oestradiol pro Woche bei gonadektomierten Tieren. Bei normalen Tieren kam es nach Oestradiolgabe nur bei den männlichen zur Zunahme der Tumoren.

Progesteron vergrößerte ebenfalls die Adenovirus 12 Tumormorrate bei Männchen. Oestrogene erhöhen die Adenovirus 12-Transformation von Hamsterzellen auch in vitro.

Adenovirus 12-Tumoren gab es häufiger in kastrierten Männchen als in normalen.

Das alles spricht dafür, daß Oestrogene die Adenovirus Onkogenität erhöhen und Androgene diese vermindern.

Für genetische Faktoren beim Krebs sprechen folgende Beobachtungen:

Die Antikörpertiter gegen EB-Virus-Antigene waren signifikant erhöht bei Mitgliedern aus Krebsfamilien, besonders bei solchen unter 20 Jahren (Levine, 1974).

Möglicherweise spielt hier eine genetische Kontrolle der Immunantwort auf ein endogenes Virus eine Rolle. Ob die Mitglieder mit hohen Antikörper-Titern nun auch häufiger an Krebs erkranken, ist noch nicht untersucht worden. Schließlich stellen die endogenen Viren, die Onkogene selbst genetische Faktoren dar, deren Beweis allerdings noch fehlt.

6.2.2. Immunologische Faktoren

Bei der Transformation durch SV40 und Polyomaviren spielt die Immunität eine große Rolle. In erwachsenen Tieren können normalerweise keine Tumoren entstehen. Wenn einzelne Zellen transformiert werden, erscheint TSTA an den Zelloberflächen. Dadurch werden die Tiere sensibilisiert und die potentiellen Tumorzellen eliminiert. Aber nach Röntgenbestrahlung, die das Immunsystem schädigt, entstehen auch in erwachsenen Tieren Tumoren.

Einige Mäusestämme waren resistent gegen die Polyoma-Virus-Onkogenese. Aber wenn ihnen gleich nach der Geburt der Thymus entfernt worden war, entwickelten sie doch Tumoren (J. S. Butel u.a., 1972).

Auch nach Behandlung mit Antilymphozyten-Serum zeigten sich ähnliche Ergebnisse.

Die SV40 Onkogenese in jungen Hamstern kann blockiert werden, wenn man die Tiere während der langen Latenzzeit (3-12 Monate) immunisiert durch Einimpfen von Viren oder von durch Viren transformierten Zellen (Goldner, 1964). Lindenmann u.a. (1967) hatten herausgefunden, daß die Infektion von Aszites-Lymphomzellen mit nicht-onkogenen Viren, z. B. Influenzaviren, die Immunogenität erhöht.

Wie kann man sich nun das Tumorstadium in SV40- oder Polyoma-transformierten Zellen von neugeborenen Ham-

stern erklären?

Es könnte sein, daß die Tumoren sich entwickeln, bevor das Immunabwehrsystem reif genug ist.

Aber das ist unwahrscheinlich wegen der langen Latenzzeiten. Die Immunkompetenz der Tiere hat sich dann schon längst entwickelt. (Friedmann und Goldner, 1970). Die Menge von TSTA kann nicht ausreichen, um das Tier zu sensibilisieren, bevor sich der Tumor entwickelt hat. Oder das TSTA verschwindet zu schnell wieder bei neugeborenen Tieren wegen der schnellen Folge von Zellteilungen, während es bei erwachsenen Tieren lange genug erhalten bleibt, um diese zu sensibilisieren. SV40-transformierte Zellen können auch immunresistent werden und dann in immunen Tieren Tumoren erzeugen. Die Ursachen dafür könnten in einem Verlust der Zellen von TSTA liegen oder in einer kleinen Veränderung von TSTA.

Denn eine direkte Immundepression ist bei DNA-Tumorstellen nicht festgestellt worden.

Im Gegensatz dazu wirken die meisten RNA-Leukämieviren immunsuppressiv.

Sie bewirken eine Abnahme der zirkulierenden Antikörper und eine Abnahme der Antikörper-produzierenden Zellen (P. B. Dent, 1972), außerdem eine Abnahme der Lymphozytenstimulation und dadurch eine Zunahme der Empfänglichkeit für Tumortransplantation. Der Mechanismus ist noch nicht klar. Vielleicht ist die Beeinträchtigung der DNA-Synthese ein Grund für den Rückgang der Antikörper-Produktion.

Nun noch zwei Beispiele einer erfolgreichen Vorbeugung gegen Tumoren durch Immunisierung.

1. Die Vorbehandlung mit Immunseren bei Mäusen 3 Tage bevor sie Moloney-Virus-induzierte Sarkomzellen eingepflanzt bekamen, war so erfolgreich, daß 60-84% frei von Tumoren blieben (Pearson u.a., 1973).

2. Mäuse konnte man gegen Leukämie schützen, indem man

die Mütter mit 334 C Leukämie-Viren immunisierte. Die kleinen Mäuse wurden mit dem 334 C-Virus nach der Geburt geimpft und dann von den immunisierten Müttern gesäugt. Mit der Milch wurde die Immunität übertragen. Nur noch 10% der Nachkommen entwickelten Leukämien. In einer Kontrollgruppe ohne Immunisierung der Mütter waren es 72 %.

Die Mütter konnten ihre Jungen 6 Monate lang schützen (R. F. Buffett, 1974).

6.2.3. Zellzyklus

Die Transformation einer Normalzelle in eine Tumorzelle hängt auch von der Zellphase ab, in der diese sich gerade befindet. Zellen in Teilung werden leichter transformiert als ruhende Zellen. Besonders bei Zellen, die in der G₁-Phase getroffen werden, kommt es nach Virusinfektion zu einem Zyklus von Synthesen, auch zur DNA-Synthese, bei der die virale DNA Gelegenheit hat, in die Zell-DNA zu "schlüpfen".

Überhaupt werden anscheinend einige Schritte im Zellzyklus durch die Transformation verändert.

SV40-transformierte menschliche Fibroblasten haben z. B. keine aminonucleosid-abhängigen Schritte in der G₁- und G₂-Phase, denn die Aminonucleoside von Puromycin hemmen die Proliferation der diploiden Zellen normaler Gewebe, aber nicht in neoplastischen Geweben (Gierthy und Studzinski, 1973).

7. Die Rolle der Viren bei menschlichen Tumorerkrankungen

7.1. Epstein-Barr-Virus (EBV)

7.1.1. EBV und Burkitt-Lymphom (BL)

Das EBV scheint bisher das einzige Virus zu sein, bei dem ein Zusammenhang mit menschlichen Tumoren nachgewiesen ist.

Schon 1963 behauptete Dennis Burkitt, daß ein später nach ihm benanntes Lymphom, das geographisch gehäuft bei Kindern in Äquatorialafrika und Neuguinea auftritt, durch Viren verursacht sei.

Inzwischen sind die Beweise dafür so stichhaltig geworden, daß man an einem kausalen Zusammenhang zwischen EBV und Burkitt-Lymphom nicht mehr zweifeln kann.

Nach vielen Untersuchungen mit einem von Epstein und Barr entdeckten Virus der Herpesgruppe wurde deutlich, daß viele Menschen mit diesem Virus infiziert sind. 90% aller Erwachsenen weisen Antikörper gegen EBV-Antigene auf. (H. zur Hausen, 1973 a) Diese Viren sind also in sehr vielen Menschen als latente Viren vorhanden.

Burkitt-Lymphom-Patienten aber weisen viel höhere Antikörper-Titer auf gegen EBV-Antigene als normale Menschen. In Tumorbiopsien konnte man große Mengen viraler Nukleinsäure nachweisen, ebenso virus-spezifische Membranantigene (H. zur Hausen, 1973 c).

In Gewebekulturen lassen sich normale Lymphozyten durch EBV transformieren. Sie sehen dann aus wie typische BL-Zellen und erzeugen nach Heterotransplantation in immunsuppressiv behandelte Tiere metastasierende Tumoren.

Als überzeugendster Beweis der Onkogenität des EBV gelten die von Shope und Miller, Epstein u. a. (1973) gemachten Versuche, bei denen durch Injektion von EBV in Krallenaffen lymphatische Tumoren erzeugt werden konnten, aus denen sich wiederum EBV isolieren ließen. Bei der Frage, ob aus EBV-transformierten Zellen wirklich ein Tumor entsteht, scheint das Immunsystem eine große Bedeutung zu haben. Warum das BL vorwiegend bei Kindern in Äquatorialafrika und Neuguinea vorkommt, weiß man noch nicht.

Es sind dies Gebiete, in denen die Malaria ganzjährig auftritt. Deshalb gab man ihr die Rolle eines Kofaktors bei der BL-Onkogenese. Vielleicht wird durch die Malaria das Immunabwehrsystem sehr geschwächt. Spontane Regressionen kommen beim BL vor, außerdem spricht es relativ gut an auf Radiotherapie und Cyclophosphamide (R. M. Mc Allister, 1973).

7.1.2. EBV und Nasopharynxkarzinom (NPC)

Obwohl Old und Boyse schon 1966 bei Patienten mit dem vor allem in Südchina auftretenden Nasopharynxkarzinom hohe Antikörpertiter gegen EBV-Antigene feststellten, glaubte man lange nicht an einen Zusammenhang zwischen EB-Viren und diesen Tumoren.

Denn bisher hatten sich nur lymphatische Gewebe durch EBV transformieren lassen. Und das NPC ist eine Mischung aus verschiedenen Geweben, ein Lymphepitheliom.

Inzwischen ist auch in den epithelialen Tumorzellen der Nachweis von EBV gelungen (Wolf u.a., 1973).

Die Antikörper-Titer gegen EBV-Antigene sind gegenüber Normalpersonen um das 64ofache erhöht. Es gibt keine Geschlechtsunterschiede (Lin u.a., 1973).

Erstaunlicherweise gibt es bei Familienmitgliedern von NPC-Patienten keine höheren Antikörper-Titer als bei Normalpersonen.

Es müssen noch andere Faktoren dazukommen, um das Auftreten von NPC zu erklären, besonders das gehäufte Auftreten in Südchina. Möglicherweise kommen da wie beim BL Infektionen des RES durch Mikroorganismen in Betracht, die zu einer Überlastung der Immunabwehrarbeit führen (J. H. Jancas, 1972).

7.1.3. EBV und weitere Tumoren

Auch bei Patienten mit anderen malignen Erkrankungen des lymphatischen Systems fand man erhöhte Antikörper-Titer gegen EB-Virus-Antigene, bei M. Hodgkin in 30% der Fälle, bei chronischer lymphatischer Leukämie bei 45%, bei Lymphomen bei 57% (R. M. Mc Allister, 1973).

Allerdings sind die Antikörpertiter bei diesen Erkrankungen längst nicht so hoch wie beim BL oder NPC, so daß die Rolle des EBV unklar bleibt.

Bei M. Hodgkin-Patienten sind nicht nur die Antikörper-Titer gegen EBV erhöht, sondern auch gegen Cytomegalaviren. Und man fand auch bei einigen Patienten Australia-Antigen (Langenheysen, 1974). Es könnte bei diesen Patienten wegen eines Defekts der zellulären Immunität zu einer humoralen Überreaktivität kommen. Dann müßte man aber an einer besonderen Rolle des EBV beim M. Hodgkin zweifeln.

7.2. Andere Herpesviren

Bei Frauen mit Zervixkarzinomen fanden sich erhöhte Antikörpertiter gegen Herpes Simplex 2-Virus-Antigene. (Frenkel u. a., 1972, Kessler u. a., 1974) Man fand auch in den Tumorzellen virale Antigene (C. R. Goodheart, 1973), aber keine Viruspartikel in invasiven Tumoren, wohl aber bei Tumoren in situ.

Menschliche Cervixcarzinome enthielten Herpes-Virus-DNA-Fragmente (39% des Virus-Genoms), virusspezifische DNA-Sequenzen, verbunden mit Zell-DNA-Sequenzen wurden gefunden, auch virale RNA. Aber nur 5% der Virus-DNA wurde transkribiert (Frenkel u.a., 1972).

Durch Einimpfen von Virus-Masern-Impfstoff oder des synthetischen Polynucleotids Poly I:C konnte man Interferon in Cervix-Carcinomen induzieren. Es gab Veränderungen in den Tumorzellen, aber nicht in normalen Zellen, und zwar gab es Löcher im Zellkern, Vakuolen im Zytoplasma und das Verschwinden von Zell-DNA (Ayre u.a., 1973). Das deutet auch auf eine virale Komponente beim Cervixcarzinom hin. Auch war es gelungen, in vitro Hamsterzellen durch UV-inaktivierte Herpes Simplex Typ 2-Viren zu transformieren, aber nicht durch infektiöse Viren (Duff und Rapp, 1971).

Trotz aller Hinweise auf eine Beteiligung der genitalen Herpes Simplex-Viren am Cervixcarzinom ist ein kausaler Zusammenhang nicht bewiesen.

7.3. Transformation menschlicher Zellen durch andere DNA-Tumerviren in vitro

Todaro und Aaronson (1968) transformierten einige empfängliche menschliche Zellkulturen mit Adenoviren Typ 12. Die Versuche serologisch oder biochemisch Adenoviren, virale RNA oder virale Antigene nachzuweisen, verliefen erfolglos (Gruen u.a., 1974).

Die Zellen produzierten zwar ein T-Antigen, aber kein virales Hüllen-Antigen, und die Mitose wurde unterdrückt.

Bei einem Patienten mit progressiver multifokaler Leukoencephalopathie fand man ein SV40-ähnliches Virus, das PM L-2. Wahrscheinlich ist eine latente Infektion mit SV40-ähnlichen Viren nicht so selten. Man fand sie im Urin nach einer Transplantation und in menschlichen Geweben bei Patienten, deren Immunabwehrsystem sehr geschwächt war. (Sack u.a., 1973).

7.4. Leukoseviren bei menschlichen Tumoren

Man suchte auch in menschlichen Tumoren nach solchen Viruspartikeln, wie man sie bei so vielen Tieren gefunden hatte.

Und man fand diese auch in menschlichen Leukämie-, Lymphom-, Sarkom- und Mammarkarzinomzellen.

Hehlmann, Kufe und Spiegelmann (1972) berichten über eine bemerkenswerte Parallele zwischen Leukämien und Sarkomen von Mäusen und Menschen. Die RNA menschlicher Leukämiezellen war der RNA von Mäuse-Leukämiezellen homolog. Keine normalen menschlichen Leukozyten oder sonstigen Gewebe enthalten nennbare Mengen von Leukämie-spezifischer RNA. Die in menschlichen Leukämiezellen gefundenen Partikel hatten auch dieselbe Dichte wie die onkogenen RNA-Viren, und sie besaßen zum Teil eine reverse Transkriptase (R. C. Gallo, 1973), die in ihren biochemischen Eigenschaften, MG 120 000 daltons, 70S-RNA, große Einheiten, Poly A, mit der von RNA-Tumoviren identisch war.

Antikörper, die gegen die reverse Transkriptase von RNA-Tumoviren entwickelt wurden, hemmen auch die leukämische DNA-Polymerase; ebenso Rifampicin SV, das die biologische Aktivität der RNA-Tumoviren voll-

kommen aufhebt. Diese Entdeckung könnte von Nutzen bei der Diagnose von Leukämien sein.

Bei Leukämiepatienten in Remission wie auch bei solchen im Rückfall nahm die Aktivität der reversen Transkriptase nach 7-tägiger Kultivierung von Knochenmarkszellen dieser Patienten zu.

Die erhöhte Enzymaktivität bei Patienten in Remission muß nicht übereinstimmen mit einer großen Zahl undifferenzierter Zellen (T. W. Mak u.a., 1974).

Auch in menschlichen Mammaadenokarzinomzellen fand man Partikel mit einer Dichte von 1,16-1,19 g/cc, 7oS-RNA und einer reversen Transkriptase-Aktivität, genau wie RNA-Tumoviren von Mäuse-Mamma-Tumoren (Axel u. a., 1972, Schlom u. a., 1973, Furmanski u. a., 1974). Die DNA, die durch die menschliche RNA synthetisiert wird, verbindet sich mit der RNA von Mäuse-Tumoviren.

Es gibt wahrscheinlich eine Beteiligung von Viren bei der Entstehung menschlicher Leukämien und Mammarkarzinomen, aber wie weit diese nun ursächlich für diese Tumoren verantwortlich sind, kann man noch nicht sicher sagen.

Auch in der Milch von einigen krebsfreien Frauen wurden solche RNA-Partikel gefunden.

Es fehlt noch der Beweis, ob diese Partikel wirklich infektiös und onkogen sind. Es könnten auch harmlose Passagierviren sein, die in vielen Geweben vorhanden sind.

Im Elektronenmikroskop wurden bei 12 von 15 menschlichen Plazenten Typ C-Partikel, verbunden mit dem Trophoblasten-Epithel, beobachtet (M. L. Vernon u. a., 1974).

Partikel im Plazentargewebe hatten eine RNA-abhängige DNA-Polymerase und gruppenspezifische Antigene, die Kreuzreaktionen mit dem endogenen Katzenvirus zeigten (Dalton u. a., 1974).

Eine weitere wichtige Entdeckung waren die Leukämieviren bei Katzen. Katzen sind nicht nur dem Menschen ähnlicher als Mäuse, sondern als Haustiere stellen sie auch ein Ansteckungsreservoir vieler menschlicher Infektionen dar.

Man fand nun diese Typ C-Katzen-Viren auch in menschlichen Lymphomen, aber nur bei sehr jungen und alten Menschen, die immunologisch geschwächt waren, oder bei Patienten mit tgammaglobulinämien oder nach Transplantation. (Antilymphozytenserum erhöht die Anfälligkeit gegen Rauscher-Virus-Tumoren und fördert die Metastasierung. (M. Essex, 1972)

Es könnte sein, daß viele Katzen das Leukämievirus mit dem Speichel ausscheiden und so auf den Menschen übertragen. Dann ist das Immunabwehrsystem sehr wichtig für die Entwicklung von malignen Erkrankungen. Man müßte genaue Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen dem Kontakt mit Katzen, lymphoretikulären Neoplasmen und Phasen der Schwächung (Infektionen, Impfungen u. a.) anstellen.

8. Zusammenfassung und Ausblicke

Man glaubt heute immer mehr daran, daß es im Grunde nur eine einzige Krebsursache gibt und daß alle anderen kanzerogenen Stoffe nur indirekte Auslöser oder Beschleuniger sind. Warum sollte dasselbe Endergebnis, eben eine undifferenzierte Krebszelle, so viele verschiedene Ursachen haben? Die Krebsentstehung ist ein molekularbiologisches Problem geworden. Man untersucht daher vorwiegend die Veränderungen in der Zelle, besonders in der Zell-DNA.

Will man alle Krebsarten auf eine gemeinsame Ursache zurückführen, so bleiben nur die Mutationstheorie und die Virustheorie.

Das Genom der Krebszelle ist irreversibel verändert und vererbbar, das spricht für die Mutationstheorie.

"Die Treffsicherheit und Geschwindigkeit der Geschwulstbildung würden die Tumoviren als eigentliche Krebsursache empfehlen." (Süss, Kinzel, Scribner, 1970). Es gibt nur eine Krebsart, die sofort auftritt, und das sind gewisse Virustumoren.

Außerdem darf man die außerordentliche Verbreitung latenter Virusinfektionen in ihrer Wichtigkeit nicht verkennen. Bevor ich nun aber näher auf die beiden Krebstheorien eingehe, will ich noch einmal die Zelle betrachten und die Veränderungen, die zur Transformation führen könnten.

Die Zelle selbst trägt eine große Verantwortung bei ihrer Transformation. Dieselben Viren, z. B. Adenoviren, lösen einmal einen Infektionszyklus, ein anderes Mal einen abortiven Verlauf oder schließlich eine Transformation aus. Es muß also weitgehend von der Zelle ab-

hängen, ob es zur Transformation kommt oder nicht.
Was aber führt dazu?

Warum werden nur so wenige Zellen transformiert?
Eigentlich weiß man über diesen entscheidenden Schritt, warum es nun zur Transformation kommt oder nicht, noch sehr wenig. Man weiß zwar, daß und wie die Zelle sich durch die Transformation verändert und auch, wie es zu Tumoren kommen kann, aber der erste entscheidende Schritt bleibt ungeklärt.

Warum gehen nicht alle Zellen nach einer Virusinfektion zugrunde? Sind die überlebenden Zellen resistent gegenüber der cytopathischen Aktion? Oder liegt es an den Viren? Sie könnten einen Teil ihrer Gene verlieren oder die viralen Gene, die für die Hüllenproteine benötigt werden, werden nicht transkribiert. Das Virus hat vielleicht selbst einen Repressor für diese Gene, und deshalb kommt es nicht zu einem Replikationszyklus. Wahrscheinlich spielen die defekten Tumurviren eine große Rolle bei der Transformation. Da sie ihre späten Proteine und ihre Hüllen nicht synthetisieren können, kommt es nicht zu einer Replikation, also auch nicht zum Zelltod. Das Virusgenom hat also Zeit und Gelegenheit, die Zelle zu transformieren, denn dazu sind die späten Proteine nicht erforderlich.

Vielleicht haben alle Tumurviren ein defektes Genom?

Oder, da nur ein Teil des viralen Genoms für die Transformation nötig ist, könnten die defekten Viren in Viruspopulationen für die Onkogenität der Viren verantwortlich sein.

Es erhebt sich die Frage, ob die Stimulation der DNA-Synthese durch die Viren wichtig ist für die Transformation. Die temperaturempfindlichen Mutanten zeigten, daß das nicht zutrifft. Man weiß, daß die Stimulation der DNA-Synthese nicht zu einem zügellosen mitotischen Wachstum führt.

Die Tumor-Virus-DNA wird ins Zellgenom integriert,

und zwar bevorzugt in ganz besonderen Regionen, in häufig vorkommenden, reiterierten Basensequenzen der Zell-DNA. Die Integration des viralen Genoms hängt wahrscheinlich von vielen Faktoren ab, denn die Transformations-erhöhende Funktion anderer Karzino-gene oder Mutagene beruht darauf, daß sie die Inte-gration der viralen DNA in die Zell-DNA erleich-tern.

Daß in SV40-transformierten Zellen nicht genau die-selben Sequenzen der "frühen" m RNA zu finden sind wie in produktiven Zellen, spricht dafür, daß in trans-formierten Zellen einige intrazelluläre Vorgänge ge-stört sind und daß schon bei diesem Schritt, der Transkription von DNA zu "früher" RNA, über die Transformation entschieden wird.

Zur Transformation wird also nur die Virus-DNA benö-tigt, alle anderen Bestandteile des Virus sind über-flüssig, deshalb müssen in transformierten Zellen auch keine Viren vorhanden sein zur Erhaltung des trans-formierten Zustandes. Es genügt die virale DNA, die in die Zell-DNA integriert ist und somit erhalten bleibt, da sie ja bei der Zellteilung mit dem übrigen Genom weitergegeben wird.

Es war den Wissenschaftlern lange ein Rätsel, daß sich in virus-induzierten Tumoren meist keine Viren mehr nachweisen lassen, aber dieses Rätsel ist nun inzwi-schen durch die "Fußspuren" dieser Viren, z. B. Nach-weis der Virus-DNA im Zellgenom, Nachweis der virus-spezifischen RNA durch Nukleinsäurehybridisierungen, Nachweis virusspezifischer Antigene etc. gelöst und also kein Gegenbeweis mehr für die Viruskarzinogenese.

Außerdem ließen sich mit bestimmten Techniken auch in transformierten Zellen zum Teil wieder infek-tiöse Viren induzieren.

Man weiß, daß nur 20% des viralen Genoms für die Transformation nötig zu sein braucht. Ein Tumorigen

enthält nur wenige Gene, Polyomavirus z. B. nur 5 - 10, deshalb müßte man eines Tages herausfinden, welches Gen oder welche Gene für die Transformation verantwortlich sind und diese dann in Form einer Gentherapie beseitigen oder blockieren können.

Sicher ist es sehr wichtig zu wissen, welcher Teil des viralen Genoms transkribiert wird. Auf dieser Auswahl könnte die Transformation und die Störung der Wachstumsregulation beruhen. Man weiß zwar, daß in transformierten Zellen die Kontakthemmung aufgehoben ist, aber wodurch, weiß man noch nicht.

Man machte die veränderte Zelloberfläche dafür verantwortlich, aber es könnten ebensogut intrazelluläre Vorgänge sein, die gestört sind.

Man könnte untersuchen, was geschieht, wenn man in transformierten Zellen Chalone zugibt. Und man müßte im Elektronenmikroskop ganz genau die Zellorganellen nach der Transformation untersuchen, wie man dies an der Zellmembran getan hat.

Vielleicht wird die Kontakthemmung in transformierten Zellen durch eine Zunahme von negativen Ladungen an der Zellmembran aufgehoben.

Die Entfernung zwischen den transformierten Zellen könnte etwas größer als $30 \overset{0}{\underset{0}{\text{\AA}}}$ geworden sein, oder kleiner. Diese Entfernung, $30 \overset{0}{\underset{0}{\text{\AA}}}$, ist gerade notwendig für den ungestörten Informationsaustausch zwischen den Zellen.

Auch die Strukturen (evtl. Ribosomen), die die Information produzieren, aussenden oder empfangen, könnten verändert sein.

Man weiß noch sehr wenig über Art und Arbeitsweise dieser Informationen, ob sie im Zellkern kodiert werden und dann zur Zellmembran gelangen, vielleicht über Zwischenstufen.

Trotz aller Bemühungen ist es also noch nicht gelungen, den Hauptgrund zu finden, der aus einer normalen Zelle

nach der Virusinfektion eine Tumorzelle macht. Es kann eine der Zellveränderungen sein, die ich beschrieben habe, oder mehrere zusammen, es können aber auch ganz andere, bisher noch nicht entdeckte Vorgänge sein. Ob die Veränderungen im Zellkern oder an der Zellmembran wichtiger für die Transformation sind, ist nicht klar, aber wahrscheinlich hängen sie miteinander zusammen und treten immer zusammen auf, mit Ausnahme des T-Antigens, das nachweislich nicht immer in virusinduzierten Tumoren vorhanden ist. Interessant wäre es natürlich trotzdem herauszufinden, warum es in den meisten durch Viren transformierten Zellen vorhanden ist und welche Aufgaben es hat. Vielleicht ist es für den Beginn der Transformation notwendig, aber nicht für die Erhaltung.

So wie die Zelle bei der Transformation eine große Rolle spielt, so spielt der ganze Organismus für die Tumorentstehung eine Rolle, besonders immunologische Gegebenheiten.

Man weiß auch darüber noch viel zu wenig, als daß man genau sagen könnte, warum der eine einen Tumor bekommt, der andere nicht. Es werden noch viele immunologische und auch genetische Studien vonnöten sein, um dies herauszufinden.

Inwieweit genetische Faktoren bedeutsam sind, ist noch sehr ungewiß, obwohl es einige Anhaltspunkte gibt, daß sie zumindest bei einigen Krebsarten einen Kofaktor darstellen.

Es gibt richtige Krebsfamilien, z. B. Brustkrebs findet man in einigen Familien gehäuft. Oberling nennt als klassische Beispiele die Familien Bonaparte und Broca mit einer großen Zahl von Krebsfällen. Er betont aber, "daß, von seltenen Ausnahmen abgesehen, nicht Krebs selbst vererbt wird, sondern eine Kombination von Umständen, die die Entstehung des Krebses beeinflußt und vielleicht begünstigt". (Charles Oberling, 1959).

Dem Immunabwehrsystem kommt wahrscheinlich die wichtigste Rolle bei der Tumorentstehung zu, nicht bei der Transformation. Es entscheidet hauptsächlich darüber, ob sich aus transformierten Zellen ein Tumor entwickelt oder ob diese Zellen zugrundegehen.

Denn gerade bei virus-induzierten Tumoren mit ihren neuen Antigenen an der Zelloberfläche wird dem Körper die Arbeit erleichtert, die verfremdeten Krebszellen herauszufinden und mit Hilfe seines Abwehrsystems zu eliminieren.

Eigentlich dürfte es dann bei gesunden erwachsenen Tieren mit einem intakten Immunsystem keine Tumoren geben. Und das ist ja auch in den allermeisten Fällen so.

Nur nach Schädigung des Immunapparates durch Röntgenbestrahlung oder Thymektomie können auch in erwachsenen Tieren, z. B. mit Polyomaviren, Tumoren erzeugt werden. Wahrscheinlich ereignen sich bei Tieren und Menschen sehr viele Transformationen, aber nur relativ selten kommt es zu Tumoren.

Die Zusammenhänge zwischen Transformation, Latenzzeit und Tumorentstehung müßten noch viel genauer untersucht werden. Was geschieht in der Latenzzeit? Immerhin hat man ja bewiesen, daß man während der Latenzzeit zumindest bei SV40 transformierten Zellen Tumoren verhindern kann (siehe S. 57)

Aber besonders beim Menschen ist dies äußerst schwierig. Dabei müßte man untersuchen, ob vor der Entwicklung eines Tumors das Immunabwehrsystem durch Krankheit, Alter oder sonstige Faktoren geschwächt war. Aber oft weiß man gar nicht, wie lange ein Tumor schon besteht, wenn er diagnostiziert wird.

Wird es jemals eine Impfung gegen Virus-Krebs geben? Die bei Tieren erreichten Ergebnisse, die ich in Kapitel 6.2.2. beschrieben habe, berechtigen zu Hoffnungen, wenn die Forschung auf diesem Gebiet nicht einen

großen Rückschritt erleidet. Neueste Untersuchungen von Hersh u. a. (1974) zeigen, daß Krebspatienten mit unterschiedlichen Tumoren, auch mit Leukämien, ihre Immunantwort auf onkogene Viren erhöhen konnten, wenn sie mit inaktivierten Rous-Sarkomviren geimpft wurden. Dabei erhöhte sich die zelluläre Immunität bei 2/3 der Patienten, und es war gleichgültig, welche Tumorart sie hatten und welche Therapieform sie erhielten. 50% der Patienten entwickelten auch IgG Antikörper gegen RSV. Hierbei zeigte sich eine verstärkte Entwicklung bei Patienten mit Melanomen und bei solchen, die BCG und Chemotherapie erhielten. Hieraus kann man eventuell für eine zukünftige virale Immuntherapie einiger menschlicher Krebsarten Schlüsse ziehen.

Natürlich sind für uns die menschlichen Tumoren von größtem Interesse. Und wenn sie von Viren verursacht würden, gäbe es auch die Hoffnung, eines Tages eine wirkungsvolle Chemotherapie, wie sie mit einigem Erfolg heute schon bei Leukämien praktiziert wird, oder eine Interferon-Therapie zu finden, oder eben vorbeugend gegen den Krebs anzugehen.

Wenn wir Menschen nicht große Ausnahmen in der Biologie sind, beherbergen wir höchstwahrscheinlich auch RNA-Viren, die unter bestimmten Bedingungen Tumoren erzeugen können.

Bei menschlichen Tumoren sind der Virusforschung jedoch sehr enge Grenzen gesetzt. Man kann ja nicht wie bei Tieren den Menschen Viren einimpfen und abwarten, ob sich Tumoren entwickeln, um zu beweisen, daß diese Viren auch für den Menschen onkogen sind. Vielleicht ist deshalb der letzte Beweis virusbedingter Tumoren beim Menschen bisher ausgeblieben. Denn wenn man RNA-Tumurviren in menschlichen Tumoren entdeckt, ist das zwar ein starkes Verdachtsmoment, aber noch kein endgültiger Beweis, daß diese Viren den menschlichen

Krebs ausgelöst haben.

Bei Mäusen ist ein RNA-Virus als Brustkrebsauslöser bewiesen. Bei Menschen fanden sich auch RNA-Viren im Brustkrebsgewebe, die den Mäuseviren sehr ähnelten. Trotzdem kann man daraus nicht einfach schließen, daß der Auslöser bei beiden dasselbe Virus ist. Denn es bestehen beträchtliche Unterschiede in Bezug auf die hormonalen und reproduktiven Eigenschaften von Menschen und Mäusen. Die Maus ist ein hervorragender Virus-Produzent, beim Menschen konnte man nur sehr wenige Typ C-Partikel in Mammacarzinom-Gewebe entdecken. Man fand heraus, daß die menschliche Milch die meisten Virionen zerstört oder beschädigt (D. H. Moore, 1974)

Bei Mäusen fand man in allen Zellen unterdrückte Typ C-Viren. Beim Menschen gibt es noch keinen Beweis dafür, daß sich auch hier in allen Zellen virales Genom befindet, obwohl man auch in der Milch von krebsfreien Frauen RNA-Partikel gefunden hat. Es ist durchaus möglich, daß ein Brustkrebsvirus bei vielen Frauen latent vorhanden ist, und seine volle Entfaltung relativ selten ist, aber daß es häufiger vorkommt, daß es teilweise transkribiert wird in Form von Antigenen oder reverser Transkriptase.

Allgemein hat man in den letzten Jahren durch viele Versuche bewiesen, daß die verschiedenen karzinogenen Faktoren, chemische, physikalische und Viren, sich gegenseitig verstärken. Sie erhöhen die Transformationshäufigkeit und verkürzen die Latenzzeiten, wenn sie gemeinsam verabreicht werden.

Da in der Natur ja nie ein Faktor allein vorkommt und man gar nicht genau aufschlüsseln kann, welchen und wie vielen Karzinogenen die Menschen täglich ausgesetzt sind, spielt die Kokarzinogenese in der Natur sicher eine sehr große Rolle. Krebsentstehung ist ganz sicher ein sehr komplexer Vorgang. Die Frage ist nur,

ob allem ein gemeinsames ursprüngliches Ereignis zugrunde liegt, z. B. die "Erweckung" der Onkogene.

Nun will ich nach diesem Exkurs über die Verantwortlichkeit der Zelle und des Organismus im Krebsgeschehen wieder auf die anfangs angesprochenen Krebstheorien zurückkommen, die Mutationstheorie und die Virustheorie, die heute durch die Onkogenhypothese verdrängt wurde.

Natürlich ist letzten Endes jede Krebszelle eine mutierte Zelle, wenn man jede Veränderung in der Zell-DNA als Mutation ansieht. Auch die Viren würden in diese Theorie passen, denn sie verändern die Zell-DNA auch, indem sie ein Stück virale DNA hinzufügen. Aber wie kann es dann zu Reversionen kommen, da doch eine Mutation irreversibel ist?

Die Onkogenetheorie dagegen geht nicht von einer Mutation aus, sondern von einer Veränderung im Repressor-System der Zelle. Hierbei könnte man die Reversionen damit erklären, daß auch die Derepression durch DNA-Tumurviren reversibel ist, das heißt, daß die Onkogene, obwohl sie befreit worden sind, wieder erneut unterdrückt werden können. Vielleicht kann der dafür zuständige Repressor von der Zelle neu hergestellt werden.

Es ist erstaunlich, wie nahe Oberling, einer der bedeutendsten Verfechter der Virustheorie, schon damals in den 30er Jahren der heutigen Onkogenetheorie kam. Er ging davon aus, daß alle Menschen und Tiere latente Viren beherbergen, die unter geeigneten Bedingungen Krebs hervorrufen können, nur nannte er sie noch nicht Onkogene. Und er erkannte auch schon, daß die Viren Krebs erzeugen können, ohne sich in der Zelle vermehren zu müssen, und daß Krebs daher nicht ansteckend zu sein braucht.

Aber er ging noch davon aus, "daß fremde Genkomplexe

von außen in die Zelle eindringen, den Zellstoffwechsel in fremde Bahnen leiten und der Wachstumszügelung des Körpers entziehen." (Ch. Oberling, 1959)

Nachdem zuerst nur RNA-Tumoviren als Leukoseerreger bei Hühnern und Mäusen entdeckt worden waren, traten für einige Jahrzehnte die DNA-Tumoviren ganz in den Vordergrund. Man konnte beweisen, daß einige DNA-Viren Zellen in vitro transformieren, die, in geeignete Versuchstiere implantiert, auch Tumoren erzeugen. Aber spontan entstanden nie solche DNA-Virus-Tumoren.

Aus allen Untersuchungen geht nicht hervor, ob diese DNA-Tumoviren die Zellen selbst transformieren, also verantwortlich sind für die Tumoren, oder ob sie nur als ein Faktor neben anderen (Strahlung, chemische Karzinogene) als Auslöser fungieren, indem sie die Repression der Onkogene ausschalten.

Man könnte die Transformation auch mit den DNA-Tumoviren allein erklären, mit ihrer Integration ins Zell-Genom und den damit verbundenen Zellveränderungen und Wachstumsveränderungen. Nur wäre damit nur ein kleiner Teil künstlich erzeugter Tumoren erklärt, nicht aber alle spontan entstandenen Tumoren.

Mit der Entdeckung der reversen Transkriptase 1970 wandte man sich wieder in verstärktem Maße den RNA-Tumoviren zu.

Nun glaubte man, einen weiteren Beweis für die virale Karzinogenese zu haben. Nur die RNA-Tumovirionen besitzen die reverse Transkriptase, nicht aber die anderen RNA-Viren.

Damit verläuft die Transformation durch DNA- und RNA-Tumoviren letztlich gleich.

Man suchte und fand nun bei vielen Säugetierarten und sogar auch beim Menschen Typ C-Viruspartikel in Leukämie- und anderen Tumorzellen. Im Gegensatz zu den

DNA Virus-Tumoren waren dies keine künstlichen Gebilde, sondern man isolierte die RNA-Tumoviren auch aus spontan entstandenen Tumoren. Es kann sein, daß die gefundenen Viruspartikel die Tumoren allein oder zusammen mit Hormonen, Chemikalien oder anderen Viren auslösen.

Sie könnten aber auch nur harmlose Passagierviren sein, die zwar in Tumoren vorhanden sind, aber auch in normalen Zellen, und die mit der Ursache des Krebses nichts zu tun haben. Aber ihre Onkogenität ist eigentlich schon bewiesen, denn sie transformieren lymphatische Gewebe.

Man ist erst am Anfang der Erforschung der Oncornaviren. Dieses Gebiet wird die Forscher in den nächsten Jahren sehr in Anspruch nehmen, liegt hier doch vielleicht das Rätsel der Krebsentstehung. Gegenüber der Theorie der Krebsentstehung von außen geht die Onkogen-theorie ja von Genen in der Zelle selbst aus. Irgendwann einmal müßte dann jeder Mensch Krebs bekommen, wenn er nur lang genug leben würde. Irgendwann müßten bei jedem die unterdrückten Onkogene befreit werden durch die Addition genügend äußerer Reize chemischer und physikalischer Art und gleichzeitiger Schwächung des Immunsystems, wie oft bei alten Leuten; dann käme es zu Tumoren.

Dafür spricht die Zunahme der Tumoren durch die verlängerte Lebenszeit heute.

Eindeutige Beweise für die Krebstheorien, auch für die Onkogentheorie, fehlen. Aber es gibt doch zahlreiche Hinweise und Argumente für diese Hypothese. Die gegenwärtigen Studien beweisen, daß ein Teil der Onkogen-Theorie richtig ist, aber sie beweisen nicht, daß das integrierte endogene virale Genom Krebs verursacht.

Die weitere Erforschung der RNA-Sequenzen der Onkornaviren, die Identifizierung ihrer zellulären Funktionen und die Analyse der Regulation dieser Funktionen

wird die Krebsforschung weiterbringen.

Es wird sehr schwer sein zu erkennen, ob die viralen Antigene in Tumorzellen eine Ursache oder ein Ergebnis der Tumoren sind. Die Viren können Krebs verursachen, der Krebs kann aber auch die Viren aktivieren, oder andere Faktoren können für beide verantwortlich sein.

Viren von außen könnten die Zellen transformieren und sie zu Tumorzellen machen, und der Körper kann dann nur noch mit seinem Immunabwehrsystem kämpfen, aber gegen die Transformation eigentlich nichts tun. Oder die Zelle selbst trägt das genetische Material einer potentiellen Krebszelle in sich, das durch Viren von außen (oder andere Faktoren) nur noch "geweckt" werden muß.

Um dies beantworten zu können, ist die Forschung noch nicht weit genug. Es spricht vieles für die 2. These. Man könnte damit alles erklären, alle Phänomene, die mit der Krebsentstehung zusammenhängen.

Diese Vorstellung, alles auf einen Nenner bringen zu können, ist sehr verlockend.

"Aber durch das Verständnis der endogenen Viren kann man auf die Frage, ob Typ C-Virus-Genom Krebs verursacht, antworten: Das spielt keine Rolle." (W. P. Rowe, 1973).

Denn die Onkornaviren sind ein Teil der Zelle selbst. Was wichtig ist, ist, daß das virale Genom dort oft ausgedrückt wird, und das gibt bestimmte Anhaltspunkte, mit biochemischen oder immunologischen Mitteln gegen die Krebszellen vorzugehen.

Argumente und Beweise für die Onkogenhypothese

1. In den meisten freilebenden Tieren kann man Typ C-Viren finden.
2. Infektiöse Typ C-Viren können sowohl in normalen als auch in transformierten Zellen induziert werden, z. B. durch Bestrahlung oder chemische Karzinogene.
3. Langzeit-Embryo-Kulturen von Mäusestämmen mit geringer Leukämierate produzieren spontan Viren (Todaro und Huebner, 1972).
4. Hybridisierungsversuche bei Hühnern mit Zell-DNA und Typ C-Virus-RNA zeigten, daß Zellen, die keine Typ C-Viren entlassen, virale genetische Information in Form von gs-Antigenen und reverser Transkriptase enthalten.
5. Auch in menschlichen Leukämien, Lymphomen und Mammacarcinomen fand man Typ C-Virus-Partikel (Hehlmann und Spiegelmann, 1973).
6. In Knochenmarkzellen von Patienten mit Lungen-carcinomen sah man im Elektronenmikroskop Typ A- und Typ B-Partikel. Die Viren hatten die Haupteigenschaften der Onkornaviren, 60-70 S-RNA, reverse Transkriptase usw. (G. G. Miller u. a., 1974). Sie hatten ein gemeinsames Antigen mit dem Virus aus Herpes 2-Zellen und mit dem Rhesus-Affen-Mammacarcinom-Virus.
7. Das endogene Virus, das von transformierten Zellen induziert wird, hat andere Eigenschaften als das Virus aus normalen Zellen.

8. Transformierte Zellen, bei denen die Onkogene "angeschaltet" sind, haben gemeinsame m RNA-Sequenzen, die es in normalen Zellen nicht gibt.
9. Die m RNA's, die Produkte der Onkogene, produzieren die transformierenden Proteine, die direkt verantwortlich sind für die Zellveränderung.

9. Literaturangaben

1. Aaronson S. (1973), Virology 52 S. 562-67
2. Aloni Y., Winocour E., Sachs, L. (1968), J. Mol. Biol. 31, S. 415-429
3. Aoki T., Huebner R. J., Chang K. S., Sturm M. M., Liu M. (1974), J. Nat. Canc. Inst. 52, S. 1189-1197
4. Axel R., Gulati S. C., Spiegelmann S. (1972), Proc. Nat. Acad. Sci. US 69, No 11, S. 3133-3137
5. Axelrod D., Bolton E. T., Hall K. (1964), Science 146, S. 1466-1468
6. Ayre, J. E., Narvaez R., Logerfo J. J., (1973), Oncology 27, No 2, S. 108-117
7. Baltimore D. (1970), Nature 226, S. 1209-1211
8. Benjamin T. L. (1966), J. Mol. Biol. 16, S. 359-373
9. Black P. H., Rowe W. P., Cooper H. L. (1963), Proc. Nat. Acad. Sci. V. S. 50, S. 847-854
10. Black P. H., Rowe W. P. (1965), Virology 27, S. 436-439
11. Black P. H. (1968), Annu. Rev. Mikrobiol. 22, S. 391-426
12. Buffett R. F. (1974), Cancer Research 34, S. 559-563
13. Bull D. L., Taylor A. T., Austin D. M. Jones O. W. (1974), Virology 57, S. 279-84
14. Burnett J. P., Mayne N., Butler L. K., Herrington J. A. (1972), J. Gen. Virol 17 S. 245-253
15. Butel J. S., Rapp F. (1967), Virology 31 S. 573-584

16. Butel J. S., Richardson L. S., Melnick J. L.
(1971 a), Virology 46, S. 844-855
17. Butel J. S., Tevethia S., Nachtigal M. (1971 b)
J. Immunol. 106, S. 969-974
18. Butel J. S., Tevethia S. S., Melnick J. L.
(1972) Advances in Cancer Research 15, S. 1-55
19. Corp R. J., Sauer G., Sakol F. (1969),
Virology 37, S. 214-226
20. Casto B. C. (1973 a) Cancer Research 33
S. 402-407
21. Casto B. C. (1973 b) Progress Exp. Tumor
Research 18, S. 166-198
22. Casto, C. C., Pieczynski W. J., Di Paolo J. A.,
(1973 c) Cancer Research 33, S. 819-824
23. Casto, B. C., Di Paolo J. A. (1973 d) Progr.
med. Virol. 16, S. 1-47
24. Casto B. C., Pieczynski W. J., Di Paolo J. A.
(1974) Cancer Research 34, S. 72-78
25. Cholan J. J., Studzinski G. P., (1974) Cancer
Research 34, S. 588-593
26. Chopra H. C., Oie H. K. (1972), J. Nat. Canc.
Inst. 48, S. 1059-1065
27. Coggin J. H. (1969) J. virol. 3, S. 458-462
28. Collins C. J., Sauer G. (1972), J. virol 10
S. 425-432
29. Dalton A.J., Hellmann A., Kalter S. S.,
Helne R. J. (1974), J. Nat. Canc. Inst. 52,
S. 1379-1381
30. Defendi V. (1966), Progr. Exp. Tumor Research 8,
S. 125-188
31. Defendi V., Jensen F. (1967), Science 157,
S. 703-705

32. Deichman G. J. (1969) Advances in Cancer Research 12, S. 101-136
33. Del Villano B., Defendi V. (1970) Bacteriol. Proc., S. 188
34. Dent P. B. (1972), Progr. med. virol. 14 S. 1-35
35. Diderholm H., Berg R., Wesslin T. (1966) Int. J. Cancer 1, S. 139-148
36. Dmochowski L. (1973), Am. J. Clin. Path. 60, S. 3-18
37. Duff R., Rapp F. (1970), Virology 42, S. 273-275
38. Duhal J. P., Césorini J. P. (1967) J. Microsc. 6, S. 50
39. Dulbecco R. (1969), Science 166, S. 962-68
40. Eaton M. D., Heller J. A., Scala A.R. (1973), Cancer Research, S. 3293-3298
41. Essex M. (1972) Oncology 26, S. 345-352
42. Fernandes M., Moorhead P. S. (1965), Tex. Rep. Biol. Med. 23, S. 242-258
43. Fogel M., Sachs L. (1970), Virology 40 S. 174-177
44. Freeman A.E., Price P. J., Igel H. S., Young I., Moryak J. M., Huebner R. J. (1970), J. Nat. Canc. Inst. 44, S. 65-78
45. Frenkel N., Roizman B., Cassai E., Nahmias A. (1972), Proc. Nat. Acad. Sci. US No 12, S. 3784-3789
46. Fried M. (1970), Virology 40, S. 605-617
47. Friedman H., Goldner H. (1970), J. Nat. Cancer Inst. 44, S. 809-817

48. Fujinaga K., Green M. (1966), Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 55, S. 1567-1574
49. Fujinaga K., Mak S., Green M. (1968), Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 60, S. 959-966
50. Furmanski P., Longley C., Fouchey D., Reich R., Reich M. A. (1974), J. Nat. Cancer Inst. 52, S. 975-977
51. Gallo R. C. (1973), Am. J. Clin. Path. 60, S. 80-87
52. Garapin A. (1973), Virology 52, S. 264-274
53. Gelb L., Martin M. (1973), Virology 51, S. 351-57
54. Gelb L., Milstein, J. B., Martin M., Aaronson S. A. (1973), Nature New Biology 244, S. 76-79
55. Gerber P. (1966), Virology 28, S. 501-509
56. Gierthy, J. F., Studzinski G. P. (1973), Cancer Research 33, S. 2673-2676
57. Gilden R. V., Corp. R. I., Taguchi F., Defendi V. (1965), Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 53, S. 684-693
58. Gilead Z., Ginsberg H. S. (1968) J. Virol. 3 S. 7-14
59. Gillespie D., Spiegelman S. (1965), J. Mol. Biol. 12, S. 829-842
60. Goodheart C. R. (1973), Cancer Research 33, S. 1417-18
61. Green M., Raskas H. J. (1972), J. Nat. Cancer Inst. 48, S. 1559-1565
62. Gruen R., Graessmann M., Graessmann A., Fogel M. (1974), Virology 58, S. 290-293
63. Haas R. (1968), Natur-Ingenieur- und Gesellschaftswissenschaften, Heft 174, S. 41-62

64. Habel K. (1961), Proc. Soc., Exp. Biol. Med.
106, S. 722-725
65. Häyry P., Defendi V. (1970), Virology 41,
S. 22-29
66. Hehlmann R., Kufe D., Spiegelmann S. (1972),
Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 69, S. 435-439
67. Hehlmann R., Baxt W., Kufe D., Spiegelmann S.
(1973), Am. J. Clin. Pathol. 60, S. 65-79
68. Hehlmann R., Goldfeder A., Spiegelmann S.
(1974), J. Nat. Canc. Inst. 52, S. 49-61
69. Henle W., Henle G. (1973), Cancer Research 33
S. 1419-1423
70. Henry C. J. (1973), Progr. Exp. Tumor Research
18, S. 273-293
71. Hersh E. M., Gutterman J. U., Marligit G.,
Geschwind C. R., Freireich E. I., Levine P. H.,
Plata E. (1974), J. Nat. Canc. Inst. 53, S. 317
- 33
72. Huebner R. J., Rowe W. P., Turner H.C., Lane W.
(1963), Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 50, S. 379-
389
73. Huebner R. J., Chanock R. M., Rubin B. A., Casey M.
(1964), Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 52, S. 1333-1340
74. Huebner R. J., Todaro G. J. (1968), Proc. Nat.
Acad. Sci. U. S. 64, S. 1087-1094
75. Huebner K., Croce C. M., Koprowski H. (1974),
Virology 59, S. 570-573
76. Irlin J. S., (1967), Virology 32, S. 725-728
77. Jancas J. H. (1972), Progr. med. Virol. 14
S. 200-240
78. Kakefuda T., Dingman C. W., Bak T. M., Hatanaka
M., Kitano Y. (1974), Cancer Research 34,
S. 679-688

79. Kessler, J., Kulcor Z., Rowls W. E., Smerdel S., Strnad M., Lilienfeld A. M. (1974), J. Nat. Canc. Inst. 52, S. 369-376
80. Kimura G., Dulbecco R. (1973), Virology 52 S. 529-534
81. Kit S., Melnick J., Anken M., Dubbs D., de Torres R., Kitahora T. (1967), J. Virol. 1, S. 684-692
82. Klein G. (1972), Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 69, S. 1056-1064
83. Koch M. A., Eggers H. J. (1969), Die Infektionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger Bd. II, Thieme Verlag, S. 1704-1730
84. Koprowski H., Pontin J. A., Jensen F., Rowdin R. Moorhead P., Saksela E. (1962), J. Cell. Comp. Physiol. 59, S. 281-292
85. Ledinko V., Evans M. (1973), Cancer Research 33, S. 2936-2938
86. Levine A. A. (1973), Progr. med. Virol 16 S. 157-214
87. Lewine A. S., Oxman M. N., Henry P. H., Levin M., Diamondopoulos G. T., Enders J. F. (1970), J. Virol. 6, S. 199-207
88. Levine A. J., Teresky A. K. (1970), J. Virol. 5, S. 451-457
89. Levine P. H., Fraumeni J. F., Reisker J. I., Waggoner D. (1974), J. Nat. Canc. Inst. 52, S. 1037-40
90. Levonson W., Bishop J. M., Quintrell N., Jackson J., (1970), Nature 227, S. 1023-1025
91. Lewis A. M., Rowe W. P. (1971), J. virol. 7 S. 189-197
92. Lindberg K., Dornell J. E. (1970), Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 65, S. 1089-1096

93. Lindenmann J., Klein P. A. (1967), J. Exp. Med. 126, S. 93-108
94. Macpherson I. (1966), Recent Results Cancer Research 6, S. 1-8
95. Mak T. W., Aye M. T., Messner H., Sheimin R., Till J., McCulloch E. A. (1974), Br. J. Cancer 29, S. 433-437
96. Marin G., Macpherson I. (1969), J. Virol 3 S. 146-149
97. Martin G. S. (1970), Nature 227, S. 1021-1023
98. Mc Allister R. M. (1973), Progr. med. Virol. 16, S. 48-85
99. Melnick J. L. (1962), Science 135, S. 1128-1130
100. Merkow L. P., Slifkin M. (1973), Progr. Exp. Tumor Research 18, S. 67-87
101. Meyer G. (1971), Advances in Cancer Research 14, S. 71-159
102. Miller G., Zhdanov, V., Lozinsky T., Volkova M., Ilyin K., Goluber D., Irlin J., Bykovsky A. F. (1974), J. Nat. Canc. Inst. 52, S. 357-364
103. Mizutani S. (1973), Am. J. Clin. Pathol. 60, S. 19-24
104. Moore D. H. (1974), Cancer Research 34, S. 2322-29
105. Mousset S., Blangy D. (1973), Virology 52 S. 385-394
106. Nachtigal M., Butel J. S. (1970), Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 135, S. 727-731
107. Nowinski R., Old L. (1970) Virology 42, S. 1152-1157
108. Oberling Ch. (1959), Krebs, Rowohlt Hamburg

109. O'Connor T., (1973), Am. J. Clin. Pathol. 60, S. 100-108
110. Oda, K., Dulbecco R. (1968), Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 60, S. 525-532
111. Pearson G. R., Redmon L. W., Bass L. R. (1973), Cancer Research 33, S. 171-178
112. Peters R. L., Spahn G. J., Rabstein L. S., Kelloff G., Huebner R. J. (1973), J. Nat. Canc. Inst. 51, S. 621-630
113. Philipson L., Petersson U. (1973), Progr. Exp. Tumor Research 18, S. 1-55
114. Pollack E. J., Todaro G. J. (1968), Nature 219, S. 520-521
115. Pope J. H., Rowe W. P. (1964), J. Exp. Med. 120, S. 121-127
116. Price P. J., Freeman A. E., Lane W. T., Huebner R. J. (1971), Nature 230, S. 144-146
117. Rabinowitz Z., Sachs L. (1970), Virology 40 S. 193-198
118. Rapp F., Butel J. S., Melnick J. L. (1965), Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 54, S. 717-724
119. Rapp F. (1973), Progr. Exp. Tumor Research 18, S. 104-137
120. Ravich A. (1971), Cancer 27, S. 1493-1496
121. Reich P. R., Black P. H., Weissman S. M. (1966) Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 56, S. 78-85
122. Rhim J. S., Nass W., Cho H., Huebner R. J. (1971), Intern. J. Cancer 7, S. 65-74
123. Rokutanda M., Rokutanda H., Green M., Fujinaga K., Ray R. K., Gurgo C. (1970), Nature 227, S. 1026-1028

124. Rothschild H., Black P. H. (1970), Virology 42, S. 251-256
125. Rowe W. P. (1973), Cancer Research 33, S. 3061-3068
126. Sabin A. B., Koch M. A. (1963), Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 50, S. 407-417
127. Sack G. H., Narayan O., Danna K. J., Weiner L. P., Nathans D. (1973), Virology 51, S. 345-350
128. Salaman M., Rowson K., Roe F. J., Ball J. K., Harvey J. J., de Benedictis G. (1963), Viruses, Nucleic Acids and Cancer
129. Sambrook J., Westphal H., Srinivasan P., Dulbecco R. (1968), Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 60, S. 1288 - 1295
130. Sanders F. K., Burford B. O. (1964), Nature 201, S. 786-787
131. Sauer G. (1971), Nature New Biology 231, S. 135-138
132. Sauer G. (1971), Forschung 72, Fischer Verlag, S. 89-106
133. Sauter C., Baumberger U., Ekenborg S., Lindemann J. (1973), Cancer Research 33, S. 3002-3007
134. Scher Ch. (1971), Virology 46, S. 956-957
135. Schlom J., Spiegelmann S. (1973), Am. J. Clin. Pathol 60, S. 44-56
136. Spiegelmann S. (1970), Nature 227, S. 1029-1031
137. Stephenson J. R., Aaronson S. A. (1974), Virology 58, S. 294-297
138. Stephenson J. R., Trowick S. R., Reynolds R. K., Aaronson S. A. (1974), J. Exp. Med. 139, S. 427-438
139. Stich H. F. (1973), Progr. Exp. Tumor Research 18, S. 260-272

140. Stoker M. (1963), Nature 200, S. 756-758
141. Strandström H., Veycilainen P., Moennig N.,
Hunsmann G., Schwarz H., Schäfer W. (1974),
Virology 57, S. 175-178
142. Strohl W.A. (1973), Progr. Exp. Tumor Research
18, S. 199-239
143. Süss R., Kinzel V., Scribner J. D. (1970),
Krebs, Heidelberger Taschenbücher 82,
S. 98-154, S. 205-225
144. Takemoto K. H., Malmgren R. A., Habel K. (1966),
Science 153, S. 1122-1123
145. Temin H. M. (1972), Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.
69, S. 1016-1020
146. Temin H. M., Mizutani S. (1970), Nature 226,
S. 1211-1213
147. Tevethia S. S., Rapp F. (1966), Proc. Soc. Exp.
Biol. Med. 123, S. 612-615
148. Tevethia S. S., Katz M., Rapp F. (1965)
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 119, S. 896-901
149. Todaro G. J., Baron S. (1965), Proc. Nat. Acad.
Sci. U. S. 54, S. 752-756
150. Todaro G. J., Green H. (1964), Virology 23,
S. 117-119
151. Todaro G. J., Green H. (1966), Proc. Nat. Acad.
Sci. U. S. 55, S. 302-308
152. Todaro G. J., Huebner R. J. (1972), Proc. Nat.
Acad. Sci. U. S. 69, S. 1009-1015
153. Todaro, G. J., Meyer Ch. A. (1974), J. Nat. Canc.
Inst. 52, S. 167-171
154. Tsuei D., Fujinaga K., Green M. (1972), Proc.
Nat. Acad. Sci. U. S. 69, S. 427-430

155. Uchida S., Watunabe S. (1969), Virology 39,
S. 721-728
156. Vernon M. L., Mac Mahon J. M., Hackett J. J.
(1974), J. Nat. Canc. Inst. 52, S. 987-989
157. Vogt M. (1970) J. Mol. Biol. 47, S. 307-316
158. Wallach D. F. (1969), N. Engl. J. Med. 280
S. 761-767
159. Weijer K., Calafat J., Daams J., Hageman P.
Misdorp W. (1974), J. Nat. Canc. Inst. 52, S. 673
-79
160. Weiss M. C. (1970), Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.
66, S. 79-86
161. Westphal H., Dulbecco R. (1968), Proc. Nat.
Acad. Sci. U. S. 59, S. 1158-1165
162. Winocour E. (1971) Advances in Cancer Research
14, S. 37-70
163. John D. S. (1973), Progr. Expt. Tumor Research
18, S. 138-165
164. Zur Hausen H., Diehl V. (1972), Nature New Biology
237, S. 189-190
165. Zur Hausen H. (1973a), Progr. Exp. Tumor Research
18, S. 240-259
166. Zur Hausen H. (1973 b), Deutsches Ärzteblatt 47,
S. 3251-3253
167. Zur Hausen H. (1973 c), Fortschritte der Medizin
30, S. 1176-1180
168. Zur Hausen H. (1973 d), Immunität und Infektion 1,
S. 5-9

Lebenslauf

Geboren am 25.9.1950 in Bad Wimpfen/Neckar als Tochter des Schreinermeisters Heinrich Wacker und seiner Ehefrau Edeltraud.

1955 Geburt meiner Schwester Claudia.

1957-1961 Besuch der Volksschule in Bad Wimpfen.

1961-1966 Progymnasium in Bad Wimpfen.

1966-1969 Besuch des Gymnasiums in Neckarsulm.

Dort Ablegung des Abiturs am 4.6.1969.

Ab Oktober 1969 vier Semester Medizinstudium an der Universität Heidelberg.

16.7.1970 Vorphysikum mit der Note "gut" bestanden.

Von 1971-1975 acht Semester Medizinstudium an der Universität in Marburg/Lahn.

29.3.1972 Physikum mit der Note "gut" bestanden.

15.7.1975 Abschluß des Staatsexamens.

Von 1974-1975 Arbeit an der Dissertation.

20.2.1976 mündliche Doktorprüfung bestanden.

Seit September 1975 Beschäftigung als Medizinalassistentin.

Renate Wacker

Renate Wacker

Marburg, den 27.2.1976

Verzeichnis meiner akademischen Lehrer

Amon, Herfried, Prof. Dr. med., Anatomie
Bode, Christian, Prof. Dr. med., Innere Medizin
Buchholz, Rudolf, Prof. Dr. med., Gynäkologie
Dittrich, Joachim, Prof. Dr. med., Kinderheilkunde
Dombrowski, Horst, Prof. Dr. med., Röntgendiagnostik
Exner, Gerhard, Prof. Dr. med., Orthopädie
Ganz, Horst, Prof. Dr. med., Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
Hamelmann, Horst, Prof. Dr. med., Chirurgie
Hensel, Herbert, Prof. Dr. med., Physiologie
Hess, Friedhelm, Prof. Dr. med., Röntg. und Strahlenheilkunde
Hort, Waldemar, Prof. Dr. med., Pathologie
Jacob, Hans, Prof. Dr. med., Psychiatrie und Neurologie
Karlson, Peter, Prof. Dr. rer. nat., Physiologische Chemie
Klaus, Dieter, Prof. Dr. med., Innere Medizin
Kleinsasser, Oskar, Prof. Dr. med., HNO-Heilkunde
Koransky, Wolfgang, Prof. Dr. med., Pharmakologie
Lütcke, Albrecht, Prof. Dr. med., Psychiatrie und Neurologie
Mannheim, Walter, Prof. Dr. med., Med. Mikrobiologie
Martini, Gustav Adolf, Prof. Dr. med., Innere Medizin
Massarat, Sadegh, Prof. Dr. med., Innere Medizin
Petry, Gerhard, Prof. Dr. med., Anatomie
Popp, Fritz, Doz. Dr. rer. nat., Strahlenheilkunde
Rodeck, Gerhard, Prof. Dr. med., Urologie
Rohen, Johannes, Prof. Dr. med., Anatomie
Schleyer, Franz, Prof. Dr. med., Rechtsmedizin
Schneider, Friedhelm, Prof. Dr. rer. nat., Biochemie
Siegert, Rudolf, Prof. Dr. med., Hygiene und Bakteriologie
Uhlarik, Alexander, Prof. Dr. med., Gynäkologie
Welge-Lüssen, Prof. Dr. med., Augenheilkunde

